

KONINKLIJKE AKADEMIE VAN WETENSCHAPPEN
TE AMSTERDAM

PROCEEDINGS

VOLUME XXXIII

No. 8

President: F. A. F. C. WENT

Secretary: B. BROUWER

CONTENTS

- H. J. JORDAN: "Der Tonus glatter Muskeln als Funktion der Muskelfluidität. Tonus, Tonische Kontraktion, Tonus im Verhältnis zum Tetanus", p. 788. (With one plate).
- C. U. ARIËNS KAPPERS: "Contributions to the Anthropology of the Near-East. I. The Armenians", p. 792. (With two plates).
- C. U. ARIËNS KAPPERS: "Contributions to the Anthropology of the Near-East. II. The spread of brachycephalic races", p. 802. (With one plate).
- L. S. ORNSTEIN und J. F. CUSTERS: "Photo-elektrische Intensitätsmessungen im Quecksilberspectrum, II", p. 809.
- W. H. KEESOM, J. DE SMEDT and H. H. MOOY: "On the Crystal Structure of Parahydrogen at liquid helium temperatures", p. 814.
- F. A. H. SCHREINEMAKERS: "Equilibria in osmotic systems in which forces act. I", p. 820.
- J. BÖESEKEN and G. C. C. C. SCHNEIDER: "On the oxidation of organic iodine compounds by means of organic per-acids", p. 827.
- A. J. DROST S. J.: "Eine Verallgemeinerung des Satzes von DESARGUES". (Communicated by Prof. R. WEITZENBÖCK), p. 830.
- G. PLACZEK: "Ueber den Ramaneffekt beim kritischen Punkt". (Communicated by Prof. L. S. ORNSTEIN), p. 832.
- F. M. PENNING: "On the liberation of electrons from a metal surface by positive ions". II. (Communicated by Prof. G. HOLST), p. 841.
- J. J. MANSOUR—BEK: "Analyse der proteolytischen Enzyme von *Maja squinado* durch die Adsorptionsmethode". (Communicated by Prof. H. J. JORDAN), p. 858.
- O. POSTHUMUS: "On the Ferns of Sumba (Lesser Sunda Islands)". (Communicated by Prof. J. C. SCHOUTE), p. 871.
- L. W. KUILMAN: "Physiologische Untersuchungen über Anthocyane". (Communicated by Prof. J. C. SCHOUTE), p. 876.
- A. A. STHEEMAN: "The conditions of activation of washed zymin, II". (Communicated by Prof. A. J. KLUYVER), p. 889.

Zoophysiology. — *Der Tonus glatter Muskeln als Funktion der Muskelfluidität. Tonus, Tonische Kontraktion, Tonus im Verhältnis zum Tetanus.* Von H. J. JORDAN. (Aus der Zoologischen Station zu Neapel.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

Bei den Muskeln der Schnecken und vieler anderer Tiere, deren Hautmuskelschlauch eine Leibeshöhle mit wechselndem Inhalt umgibt ("hohlorganartige Tiere"), kann man zwei Zustände scharf von einander unterscheiden: den Zustand der echten Kontraktion, wobei der Muskel ausgesprochen elastische Eigenschaften gewinnt und einen dauernden Zustand *scheinbarer* Ruhe, in dem der Muskel sich beträgt wie ein plastischer oder visköser Körper. Diesen Zustand nennen wir „plastischen oder viskösen Tonus“. Wie die Muskeln unseres Magens den wechselnden Mageninhalt, umschliessen die Muskeln unserer Tiere den ebenso wechselnden Inhalt des Schizozöls. Zu jedem Füllungsgrad passt ein tonischer Verkürzungsgrad, der durch einen bestimmten Viskositätsgrad der Muskeln festgehalten wird. Jede Druckerhöhung bedingt eine passive Dehnung, die ohne Spannungszunahme stattfindet. Zwei Probleme veranlassten meinen Aufenthalt an der Zoologischen Station in Neapel: 1°. Die aktive tonische Verkürzung, die wiederherstellt, was die passive Dehnung am Muskel veränderte und 2°. die Frage, ob meine experimentell begründete Meinung, dass Tonus und Tetanus prinzipiell verschiedene Funktionen unserer Muskeln sind, sich weiterhin würde bestätigen lassen.

1. *Die Dynamik des Tonus und die tonische Kontraktion.*

Meine neuen Versuche haben ergeben, dass man den Tonus bei *Aplysia* vollkommen zum Verschwinden bringen kann, wenn man die Tiere eine Nacht im Eisschrank bei ungef. 5° Seewassertemperatur bewahrt. Jeder messbare Widerstand gegen passive Dehnung ist dann aufgehoben. Bringt man nun ein solches tonusloses Tier oder den isolierten Fuss (nach Messung seiner Viskosität) in die Wärme (Zimmertemperatur oder in stubenwarmes Aquariumwasser) dann tritt in *allen* Fällen die gesuchte tonische Verkürzung auf. Eine *Aplysia* die noch über alle Ganglien verfügt, wird in kurzer Zeit wieder normal. Das total erschlaffte „oedematöse“ Tier gewinnt Turgor, die grossen Wassersäcke der Haut („Oedem“) verschwinden, die Haut wird normal glatt, die Grösse des Tieres normal. Ganz anders, wenn man dem Tiere vor dem Einbringen in das gekühlte Seewasser die Pedalganglien, welche, wie ich vor langer Zeit fand, die Zentren der Tonusregulation sind, operativ entfernt hat. Dann tritt unmittelbar nach

Eintragen des Tieres in stubenwarmes Seewasser ein ganz auffälliger Schrumpfungsprozess auf: Die Parapodien schnurren zusammen, die Mantel- und Kiemenpartie tritt bruchsackartig hervor und das ganze Tier wird in wenigen Minuten klein und hart (fig. 1, 2). Dieser Zustand behauptet sich wochenlang, so lange wie das Tier lebt. Dies ist die tonische Verkürzung, die ich an den Tonusapparaten gut untersuchen konnte, wo sie mit absoluter Sicherheit mit Hülfe einer besonderen Technik hervorgerufen werden kann.

Die tonische Verkürzung hat ihre besondere Auslösung (die Temperatur wirkt nicht als „Reiz“), ihr besonderes Zentrum, sie erzeugt keinen (elastischen) Tetanus sondern (neben Längenveränderung) zunehmende Viskosität. Temperatur hat auf diese Viskosität den folgenden Einfluss: Das Entstehen der Viskosität und Verkürzung nach ihrem Verschwinden im Eisschrank wird durch Wärme befördert, durch niedere Temperatur aufgehalten. Kurz nach ihrem ersten Entstehen kann die Viskosität durch Kälte vermindert werden. Ist die Viskosität aber einmal wirklich gebildet worden, dann gilt für den Temperatureinfluss gerade das Gegenteil; der uns interessierende Zustand wird durch Wärme vermindert, durch Kälte gesteigert; er verhält sich wie jede Viskosität oder Plastizität.

2. *Der prinzipielle Unterschied zwischen Tonus und tetanischer Kontraktion.* Der Unterschied zwischen beiden Muskelfunktionen ergibt sich grossenteils schon aus früher publizierten Erfahrungen und dem soeben Mitgeteilten. Dem stets elastischen Tetanus des in diesem Zustande nur mit steigender Spannung passiv dehnbaren Muskels, steht gegenüber der Tonus. Niemals erhöht die tetanische Kontraktion die Viskosität. Der tonische Muskel ist dagegen spannungslos dehnbar, d.h. typisch viskös. Innerhalb der Grenzen, die wir beim Experimentieren innehielten, nimmt Erregbarkeit und Tetanus mit der Temperatur zu. Ein Tetanus der sich bei weniger als 5° C. behaupten kann, ist undenkbar; noch undenkbarer dass er schon bei 10° an Kraft verliert, „gelöst“ wird. Das alles gilt aber in der Tat für den tonischen Widerstand gegen Dehnung. Alle neuen Messungen wurden bei ungef. 5° ausgeführt, bei einer Temperatur, die an und für sich Tetanus ausschliesst. Tonus und Tetanus haben je ihr eigenes Zentrum (Pedalganglien für den Tonus, Cerebralganglion für die echte Verkürzung) und ihre eigene Auslösung, denn, wie wir sehen werden, kann man die Erregbarkeit vernichten, ohne die tonische Kontraktion auszuschliessen. Folgende Versuche füllen diese Argumente an.

Magnesium (eine Lösung von 4 % wurde dem Seewasser zugesetzt) hebt alle Erscheinungen des Tonus auf, lässt aber die Erregbarkeit vollkommen intakt, steigert sie möglicherweise. Derartig behandelte Muskeln sind bei gewaltiger Erregbarkeit nicht imstande „ruhend“ der passiven Dehnung irgendwelchen Widerstand zu bieten. Die Viskosität ist aufgehoben (fig. 2). Bringt man sie erst in Kälte, sodann in stubenwarmes Wasser, so tritt auch beim Tiere, dessen Pedalganglien entfernt wurden, nicht jene gewaltige

Schrumpfung auf; die Parapodien bleiben ausgestreckt (fig. 3). Auch unter anderen Bedingungen tritt bei Temperaturwechsel keine tonische Verkürzung, aber auf Reize immer tetanische Kontraktion auf.

Ungefähr umgekehrt wirkt *calciumfreies künstliches Seewasser* (nach BETHE hergestellt). Diese Lösung vermindert die Erregbarkeit oder hebt sie sogar völlig auf. Trotzdem schrumpft das Tier ohne Pedalganglien (auch aus gekühlter in stubenwarme Lösung kommend) sehr deutlich (fig. 5, 6). Hält man ein Tier eine Nacht lang in calciumfreiem Wasser im Eisschrank und misst darauf die Viskosität, so ist diese *nicht* geschwunden, wie dies der Fall gewesen wäre, wenn das Tier sich in normalem Seewasser befunden hätte. Man kann den Versuch auch so gestalten, dass man den Tonus in Seewasser von 5° zum Schwinden bringt, das Tier sodann in Ca-freies Wasser gleicher Temperatur bringt und in diesem etwa eine Nacht lang lässt. Auch dann ist Viskosität mit allen ihren Eigenschaften nachzuweisen. Es gelingt also, beide Erscheinungen vollkommen von einander zu dissoziieren. Es ist möglich eine von beiden aufzuheben, die andere aber bestehen zu lassen.

Die einfachste Lösung des Problems wie zwei so prinzipiell verschiedene Erscheinungen bei einem Muskel möglich sind, ist die alte Annahme, dass beide je in besonderen Elementen des Muskels lokalisiert sind.

K. HERTER hat aber in meinem Institut Versuche gemacht, die für *Helix* diese Annahme ausschliessen.

Dies Zusammenarbeiten zwischen Tonus und Tetanus muss nach alledem auf einer Veränderung des colloidalen Zustandes ein und derselben Faser beruhen. In der Ruhe ist die Faser flüssig, nach Reizung fest. Die Muskelfaser verhält sich daher ähnlich wie das Protoplasma der Sarcodinen. Auch hier finden wir Plasmaarten von sehr verschiedenem Fluiditätsgrade. Bei verschiedenen Arten kann das Plasma verschiedene Konsistenz haben. Es treten weiterhin grosse Unterschiede auf zwischen dem Plasma verschiedener Schichten. Endlich kann ein und dasselbe Protoplasma je nach Funktion einen anderen Fluiditätsgrad annehmen. Bei allen diesen Zuständen kann die vorherrschende Eigenschaft Viskosität sein, wenn auch, je mehr der Gelzustand erreicht wird, desto mehr Elastizität bei passiver Formveränderung nachweisbar wird. Sobald aber bei der Gelifikation echte Struktur auftritt, dann herrscht die Elastizität vor. Dies ist nach allem was man weiss stets bei kontraktile Zuständen oder bei kontraktile Strukturen (Myonemen) der Fall. In letzter Linie ist das Verhältnis zwischen Viskosität und Elastizität bestimmt durch den veränderlichen Hydratationsgrad.

Die irreversible Dehnung des ruhenden Schneckenmuskels ist also eine Verschiebung der Teilchen, die das Protoplasma bilden; die Struktur wird verändert, was möglich ist, da der Muskel in diesem Zustande keine feste Struktur besitzt, sondern, wie ich das genannt habe „morphokinetisch“ funktioniert. Daher muss die tonische Kontraktion, da sie den Zustand wieder herstellt, den die passive Dehnung veränderte, auf einer aktiven Teilchenverschiebung im umgekehrten Sinne beruhen: sie muss vergleich-

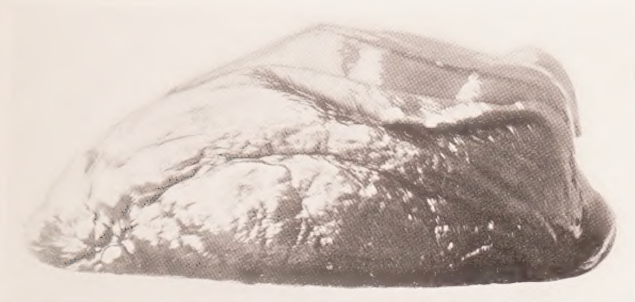


Fig. 1.

Aplysia limacina ohne alle Ganglien, nachdem das Tier eine Nacht lang im Eisschrank gestanden hat, in der Luft fotografiert (die warme Luft hat eine erste Schrumpfung erzeugt, die aber noch wenig zu bedeuten hat).

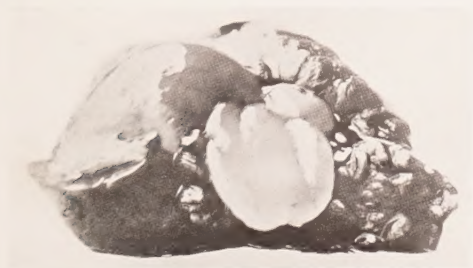


Fig. 2.

Aplysia limacina, das nämliche Exemplar wie in fig. 1, einige Minuten später nach Verweilen in Aquariumwasser von Zimmertemperatur: total geschrumpft.



Fig. 3.

Fuss von *Aplysia* nach Verweilen (eine Nacht lang) in Seewasser, dem Magnesiumchlorid von 4% zugesetzt worden war. Mittlere Länge eines solchen Fusses ist 12—14 cm. Man vergleiche diesen Fuss mit demjenigen auf fig. 6 rechts, bei dem man die Form eines normalen gedehnten Fusses (Verhältnis zwischen Länge und Dicke) sehen kann.



Fig. 4.

Aplysia limacina. Das Tier stand eine Nacht in Seewasser plus Magnesium-chlorid 4% im Eisschrank. Alle Ganglien sind exstript. Das Tier kommt in Seewasser von Zimmertemperatur: es tritt die Schrumpfung (wie in fig. 2) nicht auf; die Parapodien bleiben frei (rechts gut zu sehen), der Kopf hängt schlaff herab.



Fig. 5.

Aplysia; am 12 Juli wurden alle Ganglien herausgenommen; am 14 Juli kommt das Tier in künstliches Seewasser ohne Calcium. Photographiert am 15 Juli (nach ungefähr 24 stündigem Verweilen in Ca-freiem Seewasser). Starke Schrumpfung mit grossen Blasen.



Fig. 6.

Zwei Füsse von *Aplysia limacina*, wovon der eine (links) von einem Tiere, dem alle Ganglien exstript wurden, stammt. Beide Tiere hatten lang in Ca-freiem Seewasser verweilt (Exstirpation vor dem Einbringen in das Ca-freie Seewasser). Nun werden die beiden Füsse abpräpariert (also auch rechts die Ganglien entfernt) und die Dehnungskurve auf dem "Tonusapparat" aufgenommen. Durch das Fehlen der Pedalganglien ist also links im Laufe der Zeit mehr Viscosität entstanden und hat übertriebene tonische Verkürzung stattgefunden, trotz des Ca-freien Wassers.

bar sein mit den Plasmaströmungen, wie sie bei einem Pseudopodium einer Amöbe auftreten, wenn dieses eingezogen wird. Auch funktionell gleicht der Hautmuskelschlauch unserer Schnecken dem Exoplasma der Sarcodinen insofern, als beide Organe den flüssigen Inhalt eines Hohlraumes mit wechselndem Inhalte stets genau umschliessen und allen Volumenschwankungen sich anpassen müssen, ohne dass Spannung entsteht. Bei jeder beliebigen Länge aber müssen die glatten Muskeln Bewegung erzeugen, d.h. durch „Phasenwechsel“ fest werden können, worauf dann die eigentliche Verkürzung auftritt.

Anthropology. — Contributions to the Anthropology of the Near-East.

I. The Armenian skull and brain. By C. U. ARIËNS KAPPERS.

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

The physical characteristics of the peoples of the Near-East are of great interest to anthropologists as well as to archeologists.

Of those who dealt with the features of the Armenians F. VON LUSCHAN¹⁾, E. CHANTRE²⁾, DJAWACHISCHWILI³⁾, PITTARD⁴⁾ and FRIDTJOFF NANSEN⁵⁾ should be mentioned. Some details are also found in DUDLEY BUXTON's book on the peoples of Asia.

In addition the work of E. H. R. ALTOUNYAN⁶⁾, N. KOSSOWITCH⁷⁾ and above all that of L. W. PARR⁸⁾ is of importance for our knowledge of the blood type.

Most authors agree that the Armenians belong to the Indo-European group. According to their somatic characteristics as well as to their blood type, they may be related to some groups in the Balkans, either the Dinarics (NANSEN) or — as might be deduced from the blood type — to some groups now living in Roumania⁹⁾. Their somatic features are best described by CHANTRE and DJAWACHISCHWILI. CHANTRE examined a large number and expressed his data in a curve (table A). With 297 males and 44 females from different regions he found for the males an average body height of 1.68 M. (DJAWACHISCHWILI found 1.67 M., PITTARD 1.66 M.), for the females one of 1.53 M.

The average length width index of his males was 85.71. For the females he found it to be *less* (l.c. p. 49), without giving an average figure.

1) F. VON LUSCHAN. Die anthropologische Stellung der Juden. Correspondenzblatt der Deutschen anthropologischen Gesellsch. 1892. *The same*. The early inhabitants of Western Asia. Journ. of the Roy. Anthropol. Instit. of Great Britain and Ireland, Vol. 41, 1911 (see also Smithsonian Report for 1914, Washington, 1915). *The same*. Völker, Rassen und Sprachen. Berlin, 1922.

2) E. CHANTRE. Recherches anthropologiques dans l'Asie occidentale. Archives du Muséum d'histoire naturelle de Lyon, Tome VI, 1895.

3) A. DJAWACHISCHWILI. Die Rassenzusammensetzung der Kaukasusvölker. Archiv f. Anthropology N. F., Bnd. XX, 1925, p. 77.

4) PITTARD. Race and History. London and New York, 1925.

5) F. NANSEN. Armenia and the Near East, Allen and Unwin, London 1928.

6) E. H. R. ALTOUNYAN. Blood transfusion in Syria with analysis of 1149 blood groupings. The Lancet, 1927, p. 1342.

7) N. KOSSOWITCH. Recherches sur la race arménienne par l'isohémagglutination. Compt. rend. de la Soc. de Biol. de Paris. Année 79, T. II, 1927.

8) L. W. PARR. Die Blutgruppenverteilung in der Bevölkerung des nahen Osten und Nord-Afrika. Zentralblatt f. Gruppenforschung, Bnd. IV, 1930. See also Journ. of Immunology. 16, 1929.

9) According to the blood type lists in SNIJDER's Bloodgrouping in relation to clinical

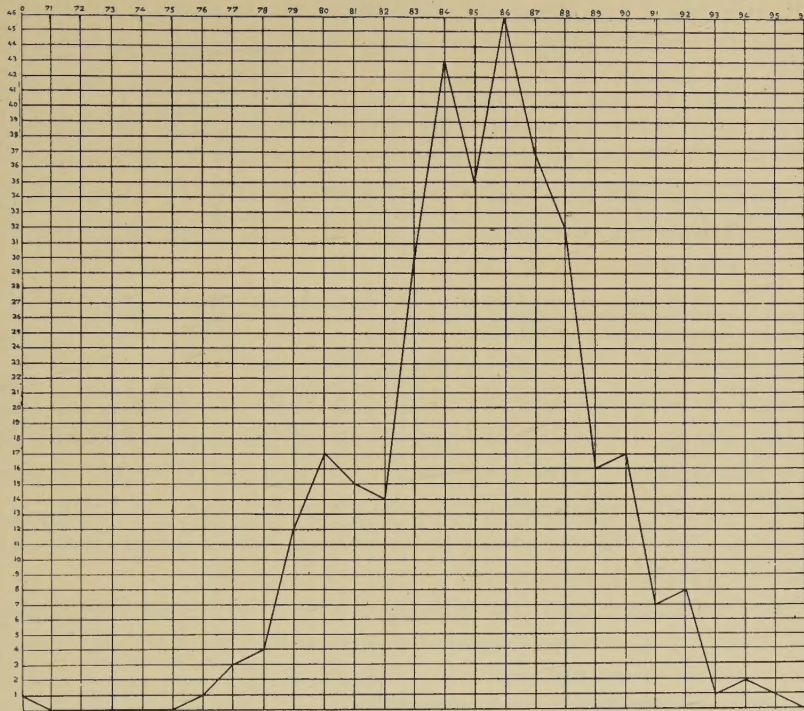


TABLE A (CHANTRE).

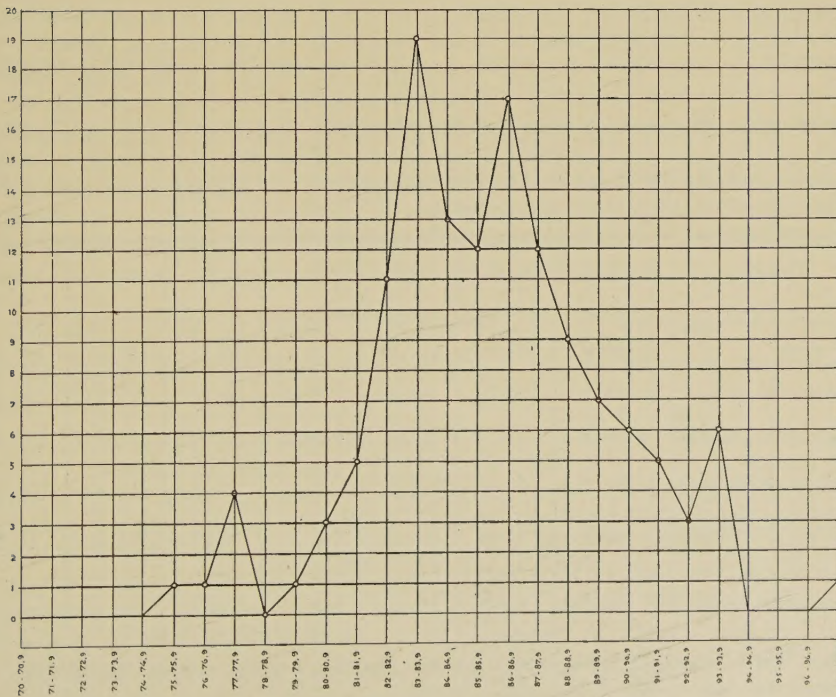


TABLE B (KAPPERS).

CHANTRE measured the auriculo-bregmatic height in 62 individuals (57 ♂ and 5 ♀). Considering the average length 18.1, the aurico-bregmatic height-length index in men is 66.85.

DJAWACHISCHWILI who (l.c.) measured 318 Armenians from the Caucasus, found an average length of 18.1, an average width of 15.7, thus an average length-width index of 86.7 in men. This author gives no height figures of the head.

As my own researches were made in view of brain anthropology I thought it desirable to gather some first hand data concerning the calotte of the head.

For this purpose I measured 141 Armenians, partly students of the American University of Beirut, partly people in the towns of Beirut and Constantinople. Five of the former came from the Armenian colony established at Ispahan, since the times of Abbas the Great. Concerning these five, see p. 795. — Of the remaining 136, 97 were males, 39 females and all were adults, or at least above 15 years. — Of each of them I measured the greatest length, the greatest width and the height of the head above the tragon (*incisura auricularis anterior*), the head being kept in the Frankfurt horizontal.

In the frequency curve of table B I give the various length-width indices found in males, and females together.¹⁾

The average measures and indices found in each sex are as follows:

Group	length	width	height	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
Armenian ♂	18.20	15.54	13.13	85.38	84.49	72.14
Armenian ♀	17.51	15.01	12.38	85.72	82.48	70.70

From this it appears that the length-width index in males differs but and legal medicine (WILLIAMS and WILKINS, Baltimore 1929) the blood types in the Balkans (apart from the Greek) are as follows:

Groups	O	A	B	A—B	p	q	r
Serbians	38.0	41.8	15.6	4.6	26.8	10.7	61.8
Mount. Rouman.	36.5	40.9	14.5	7.9	28.6	12.1	60.4
Valley Rouman.	33.5	41.2	19.0	6.3	27.5	13.6	57.8
Bulgars in Bulgar.	39.0	40.6	14.2	6.2	27.1	10.8	62.4
"Bulg." in Rouman.	30.6	44.6	16.5	8.1	31.3	13.3	55.3
Armenians (Parr)	28.3	46.7	12.0	12.4	36.1	13.4	53.3

From this it would seem to appear that the Armenians come nearest the "Bulgars" (?) in Roumania.

¹⁾ I could put them together since the average length-width indices differed very little.

little from the figure found by CHANTRE (85,71) and PITTARD¹⁾ (85,69). Whereas, however, CHANTRE, in his 44 women, found the l.w.i. to be smaller than in man, I find it slightly larger. Usually female skulls, have a somewhat higher index than male ones.²⁾

In connection with the supposed relationship of the Armenian race with the Dinarics of the Balkan (NANSEN) I give the results of my measurements of Dinaric men and those of HABERLANDT and LEBZELTER³⁾ and PITTARD⁴⁾.

Authors	length	width	height	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
HABERL. & LEBZ.				87.13		
PITTARD				86.60		
KAPPERS	18.14	15.76	13.55	86.88	85.98	74.69

I am not inclined to make conclusions concerning racial relations between these peoples, from these figures alone.

Before dealing with the brain of the Armenians, a few words concerning my Armenians from Isphahan.

Of these five only one was strongly brachycephalic (90.1) with a l. h. i. of 73.3 and a w. h. i. of 81.3. Of the four others one was sub-brachycephalic, two mesocephalic and one even dolichocephalic. The average indices of the last four were l. w. i. = 77.7; l. h. i. = 68.27, and w. h. i. = 87.90. These figures, however, approximate much more the figures I found for the Persians from Isphahan, whose l. w. i. = 77.91; l. h. i. = 68.47 and w. h. i. = 87.84, so that a predominating admixture with Persian blood is highly probable.

This experience leads me to be careful also with the mesocephalic indices found by CHANTRE, especially in some of his women (see p. 792).

The hyperbrachycephalic young Armenian from Isphahan is, however, interesting, as it shows that a family originating centuries ago from the boundary of Caucasia and Persia (the old Armenia) and whose paternal and maternal ancestors lived in the Armenian colony since Abbas the Great may thus keep its ancestral features.

The number of the brains available to me was not great. Still, thanks to the kindness of Prof. HARALD KRISCHNER, pathological anatomist at

¹⁾ PITTARD, Measured 124 men. See *Race and History*. London 1926, p. 369.

²⁾ So I found in the Samaritans 77.23 for the males and 78.97 for females, in the Lebanese 84.38 for the males, 85.40 for the females, in the Irakkians 84.50 for the males and 85.14 for the females. C.f. also R. MARTIN. *Lehrbuch der Anthropology*. 2d. Ed. Bnd. II p. 772—778, Duckworth, Morphology and Anthropology, Cambridge Univ. Press p. 262, 1904 and J. CAMERON, *Amer. Journ. of phys. anthrop.* Vol. 13, 1929, p. 171.

³⁾ HABERLANDT and LEBZELTER. *Zur physischen Anthropol. der Albanesen*. Arch. f. Anthropol. N. F. Bnd. XVII, 1919.

⁴⁾ PITTARD. *Les peuples des Balkans*, Paris, 1920 (112 ♂ with an average of 86.36) and *l'Indice cephalique de 116 Albanais* (average index 87.9). *Revue anthropologique* 32 Année, 1922. For the older literature see RIPLEY: *The peoples of Europe*, p. 412.

the American University of Beirut I received seven Armenian brains. I fixed these brains by hanging them at the basal artery in 10% formaline, so that they did not touch the walls of the container. After a month they were taken out and, after being measured, were halved in the mediosagittal line, and further preserved lying on the flat bottom of the container, the medial wall of the hemisphere down.

In addition there was an old but very well preserved Armenian brain apparently fixed in the skull, but of unknown sex, making eight altogether.

Of the first mentioned seven brains three were of men, four of women. The old brain (N^o. VI) probably was also a female brain according to its dimensions and weight.

The weights of the male brains (after 4—9 months fixation in formaline), cut at the calamus, the meninges stripped and ventricles emptied, was 1406, 1365 and 1336 gramms, which gives an average of 1369 gr. Abstracting (with FLATAU) one percent for the influence of formaline fixation, this would make 1355 gr.

The weight of the female brains, treated the same way, was 1246, 1239, 1225, 1075 and 1017 gramms, giving an average of 1160,4 gr. Abstracting again one percent this would be 1148,8 gr.

The average body height in males according to CHANTRE being 168 cm. (according to DJAWACHISCHILI 16.71), an average brain weight of 1355 gr. would give a cephalisation coefficient of 2.733¹⁾ calculated according to DUBOIS' formula, presuming the body weight corresponding with a height of 168 cm. being 65 kg.

Similarly an average female brain weight of 1149 gr. with an average female body length of 153 cm. (CHANTRE) would give a somewhat smaller (2.623) cephalisation coefficient, presuming a body weight of 53 kg. to correspond with this height.

As two of my eight brains were not well enough kept during the voyage from Beirut to Amsterdam, I only used six brains for calculations of the indices introduced for anthropological studies on the brain²⁾. In this I was kindly assisted by Mrs. VAN BORK-FELTKAMP who constructed for this purpose an instrument, which permits the measurement of these indices with greater accuracy than on photographs.

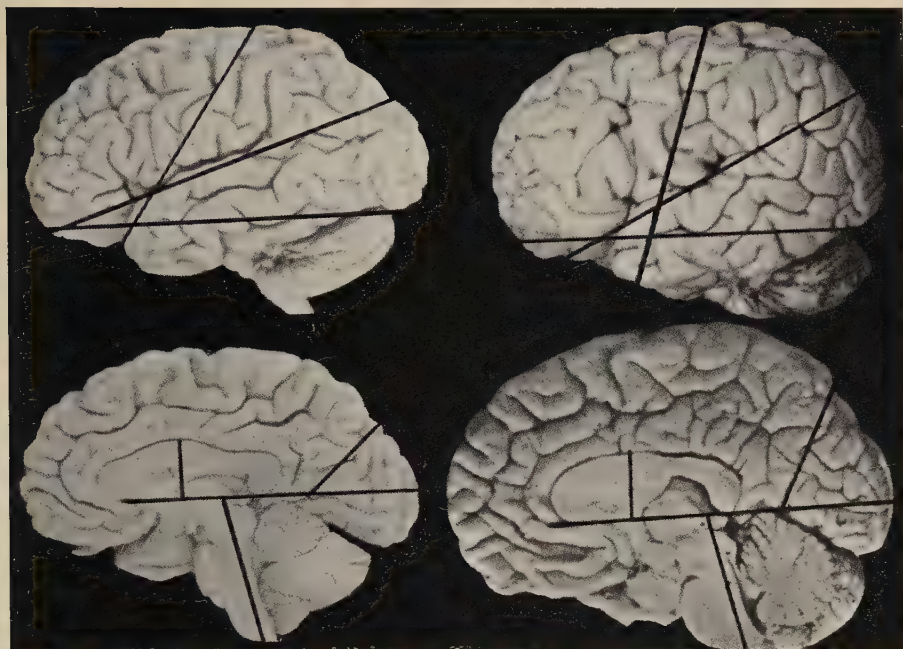
In the following table I give the brain indices of these brains whose l.w. index varied from 85.1 to 91.1 and who consequently were all hyperbrachencephalic.

Comparing the Armenian indices with the indices in brachycephalic and mesocephalic Dutch brains, we see that the callosum index in my Armenian brains is about the same as in my hyperbrachycephalic Groningen brains (index varying from to 85.7 to 89.81) being in both considerably larger than in mesocephalics.

¹⁾ This agrees very well with the coefficient of European males (2.74).

²⁾ See Evolution of the Nervous system in Invertebrates, Vertebrates and Man (Bohn, Haarlem, 1928) p. 217.

C. U. ARIËNS KAPPERS: CONTRIBUTIONS TO THE ANTHROPOLOGY
OF THE NEAR-EAST. I. THE ARMENIAN SKULL AND BRAIN.



Dutch mesocephalic cerebrum
(index 77).

Sylvian angle 72°
 Rolandic angle 34°
 Cunningham's Rolandic angle 55°
 Stem angle 105°
 Parieto-occ. angle 43°
 Par. occ. relation 1 : 1.
 Callosum ind. 0.327.

Dutch brachycephalic cerebrum
(index 89.81).

Sylvian angle 63°
 Rolandic angle 19°
 Cunningham's Rolandic angle 70°
 Stem angle $101\frac{1}{2}^{\circ}$
 Parieto-occ. angle 59°
 Par. occ. relation 1 : 0.8
 Callosum ind. 0.367.

PLATE I

It further appears that the stem angle in the Armenians is smaller than in Dutch mesocephalics. This is to be correlated with the relatively more frontal position of the foramen magnum in brachycephalics as pointed out by BOLK. The same occurs in Dutch brachycephalics.

Brain indices	Armenians	Hyper-Brachyc. Groningen	Amsterdam (mesocephalics)
General height ind.	0.528	0.522	0.491 ²⁾
Tempor. depth ind.	0.166	0.160	0.145 ²⁾
Tempor. length ind.	0.747		(0.751)
Frontal height ind.	0.496		(0.448)
Frontal length ind.	0.395		(0.364)
Sylvian angle mihi	57.43	56.6	65.0 ²⁾
Rolandic angle Cunn.	70.8°	70.33°	64.56° ³⁾
Rolandic angle mihi	25.0°	22.2°	25.8° ⁴⁾
Stem angle ¹⁾	101.0°	100.75°	106.0° ²⁾
Parieto-occ. angle	54°	49°	44.6°
Callosum index	0.394	0.400	0.321 ²⁾

There is hardly any difference in the averages of my Rolandic angle (the angle between the Rolandic fissure and the perpendicular on the lateral horizontal). It appeared to me that this angle varies very much (from 19° to 32°) in both groups, so that its value for the anthropology of the brain seems rather doubtful, although examination on a larger material may render it more useful.

There is, however, a considerable difference in the Rolandic angle as measured by CUNNINGHAM⁵⁾, being the angle between the average course of the central sulcus and a tangent on the brain, where this fissure indents the mesial wall. Apparently this way of measuring is very use-

¹⁾ The stem angles seen in the photographs of table I and II are no more accurate on account of slight deformation.

²⁾ These indices concern brains of a length width index varying from 75—80. The indices put between brackets concern brains varying from 75—82. The skull index being smaller also these may be considered mesocephalic.

³⁾ CUNNINGHAM found 71.7 (l.c. 174) in adults, 73.6° in the six months fetus. As the latter usually have a much higher index than adults, the increase of this figure in the fetus may be also correlated with its brachycephaly.

⁴⁾ The fairly equal average of my Rolandic angle confirms CUNNINGHAM's statement (l.c. p. 192) that the average position of this fissure in all adult brains is a rather constant one (even more constant than the coronal suture, he says).

⁵⁾ CUNNINGHAM. Surface anatomy of the cerebral hemispheres. Roy. Irish Academy. CUNNINGHAM Memoires N°. VII, 1892.

full for anthropological purposes¹). A similar increase was observed in the Dutch hyperbrachycephalics.

A still greater difference is observed in my Sylvian angle (between the average course of the Sylvian fissure and a perpendicular on the lateral horizontal) and this difference again holds good for my Dutch hyperbrachycephalics.

In my mesocephalics this angle varied from 60° — 72° , in my Armenians from 53° — 62° , in my Dutch hyperbrachycephalics from 54° — 60° . Apparently the Sylvian angle, as I proposed to measure it, is of great value for the anthropology of the brains, indicating the greater steepness of the Sylvian fissure in brachycephalics and specially in hyperbrachycephalics.

It is strange that CUNNINGHAM contested the influence of the skull index on the course of the Sylvian fissure (l.c. 135), although the angle he called the Sylvian angle was measured in a way not very different from the way I measure it.

CUNNINGHAM drew a line through the longest axis of the cerebrum and then measured the angle between the average course of the Sylvian fissure and the perpendicular on this longitudinal axis. As I measure it between the fissure and the perpendicular on the lateral horizontal, which deviates only slightly from CUNNINGHAM's longitudinal axis, the difference between his angle is not so large. This also appears from our figures. So my Sylvian angle in brains of an index varying between 74 and 81 is 65.7 , while CUNNINGHAM found 66.8 as an average in 16 brains from 74 — 80.7 skull index. CUNNINGHAM, however, compared eight brains of a 74 — 77 index with eight brains of a 78.2 — 80.7 index and found the averages in the first group 66.5 , in the second 67.1 . It is, however, evident that these differences in skull index are too small to allow a conclusion, all his skulls being mesocephalic. Comparing brains of a skull index from 74 to 81 on one hand and from 85.1 to 91.1 on the other, i.e. mesocephalic skulls with hyperbrachycephalic skulls I found a very striking and constant difference.

This angle is larger in mesocephalic brains. In conformity herewith I found it still larger in the dolichocephalic brains of the Australian aborigines, described by FLASHMAN²), DUCKWORTH³) (brain I) and WOOLLARD⁴), where it varies from 66° to 75° , the average being 70.0° . In an Australian aborigines brain of my institute the average of both sides is 70.5° .

The difference in the Sylvian angles of the brachycephalic and mesocephalic brain is reflected in the temporal length and height indices, the former being smaller, the latter larger in the Armenian brains. The

¹) The reason that this angle shows great differences in brachycephalic and dolicho- or mesocephalic brains and increases with the skull index seems to be due to the rounder form of the brachycephalic brain in the occipito-frontal plane, correlated with the fact that the central fissure indentation in the mesial wall always lies behind the perpendicular through its ventral end. So CUNNINGHAM's angle shows an increase in the rounder brain.

²) FLASHMAN, Description of sulci of four brains of Australian Aborigines (brain I, fig. III) Report from the pathological laboratory of the lunacy department New South Wales, Vol. I, part 1, 1903.

³) DUCKWORTH. On the brain of the aboriginal natives of Australia etc. Part 1 Journ. of Anatomy and Phys. Vol. 42, 1907.

⁴) WOOLLARD. The Australian aboriginal brain. Journ. of Anat. Vol. 63, part II, 1929.

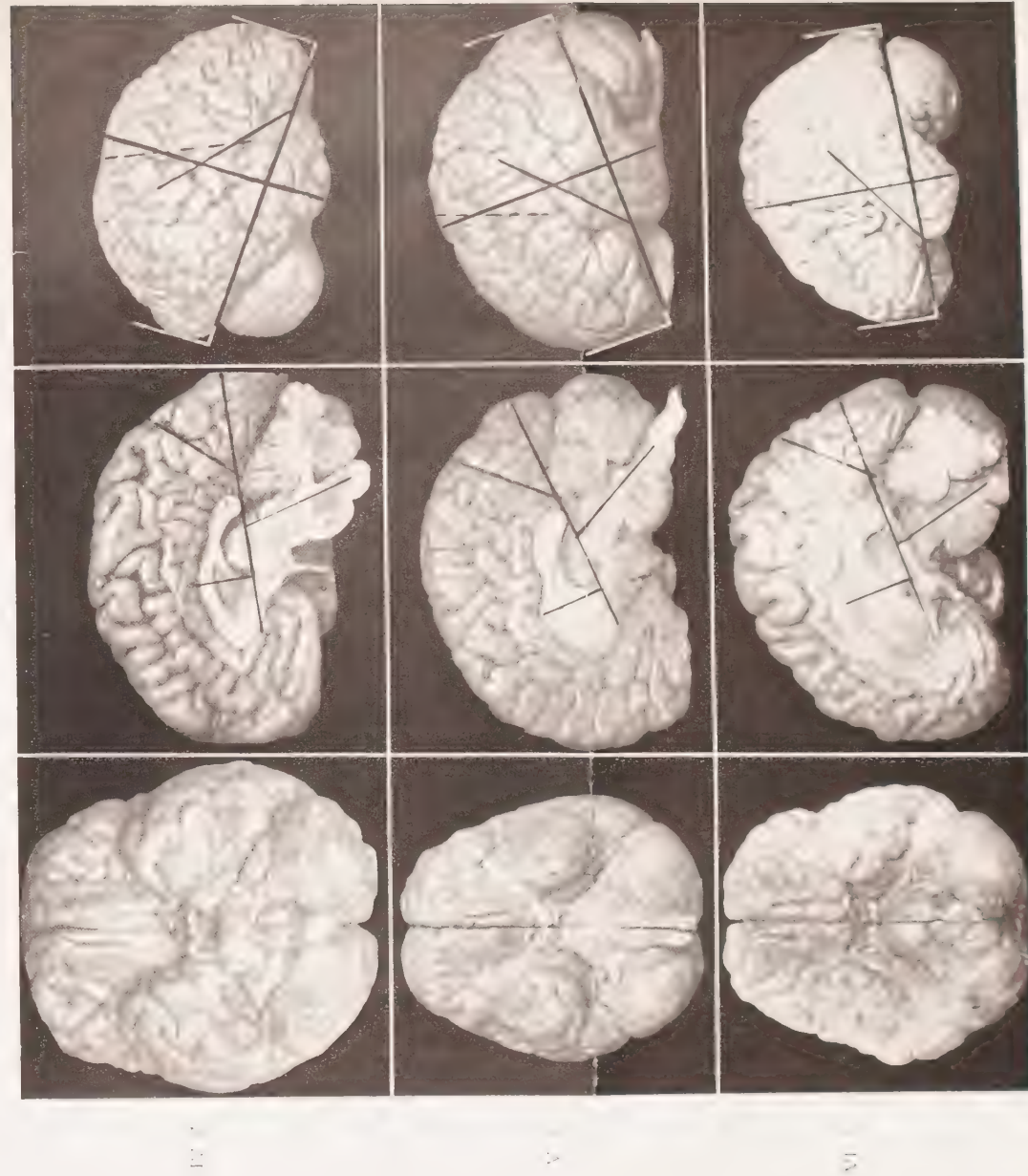
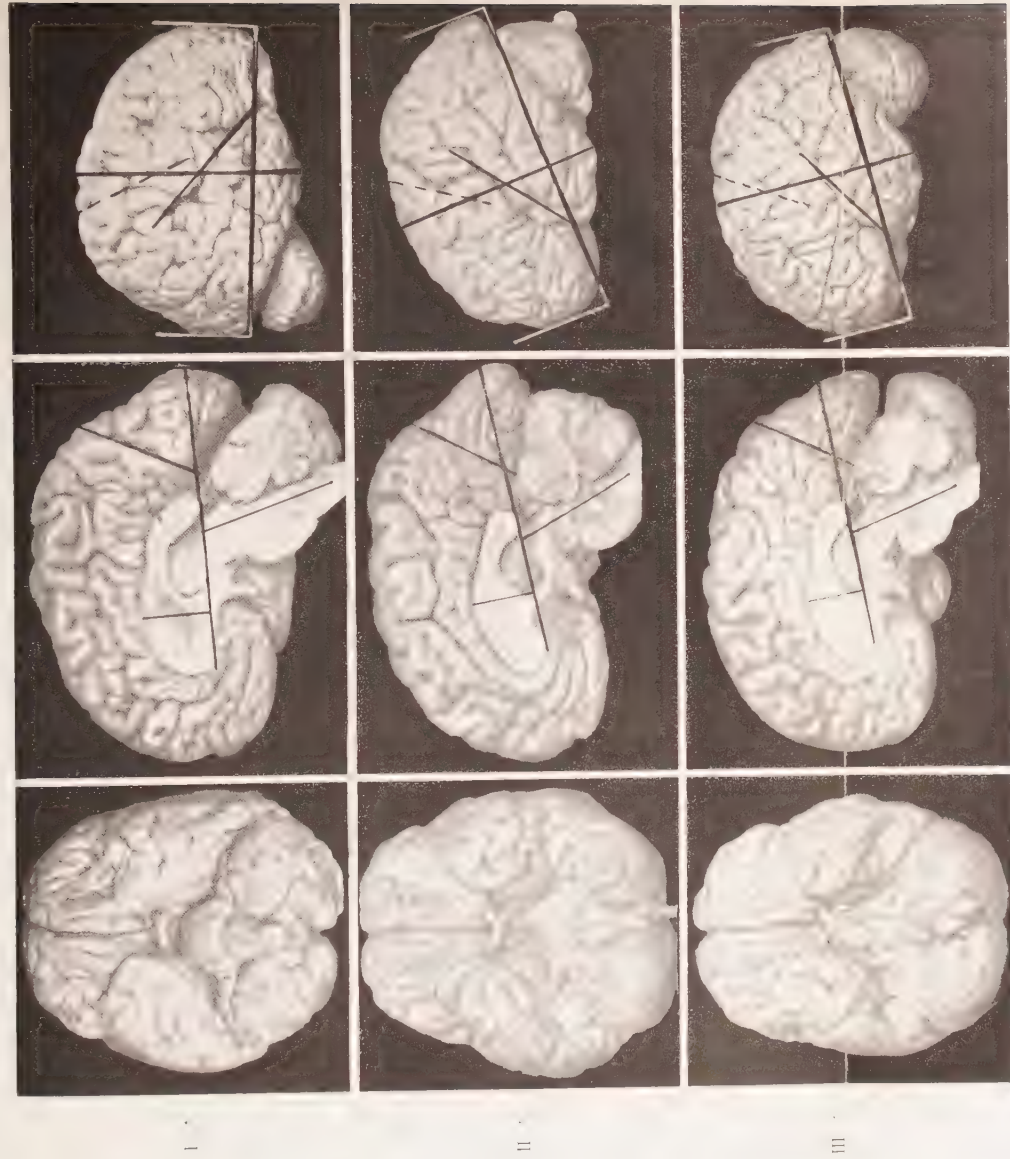


PLATE II AND III

smaller relative length of the temporal lobe is an expression of the occipito-frontal pressure, which influences specially the (parietal and) temporal lobe, so its relative length (compared to the total length) becomes less, while the frontal length index becomes larger. This compression is, however, more evident in the height index of the temporal lobe and would show still more if the height of the temporal lobe could be expressed by a perpendicular on the fissura Sylvia at corresponding points in brachycephalics and mesocephalics.

If we now consider the way these indicial differences influence the fissuration we see at once that the fissuration of the temporal lobe of the Armenians is peculiar by the fact that in the region below the superior temporal fissure the short irregular fissures, which usually represent the second (inferior mihi) temporal sulcus are represented by rather perpendicular grooves of a quite considerable height, provided with oblique branches. Even the superior temporal sulcus is more undulating than usually in dolichocephalics. In one or two hemispheres the posterior half of this fissure was broken in irregular transverse pieces. The occipito-frontal compression also appears in the form of the Sylvian fissure itself which, in addition to its steepness, often shows a more pronounced curve in its frontal part and a dorso-ventral bifurcation at the end.

Parallel to this process is the great constancy on the inferior parietal lobe of the perpendicular fissures, that may or may not connect with the superior temporal: the r. ascendens temporalis superioris (or parallelus superior), the fissura angularis, and the occipitalis anterior (c.f. also SHELLSHEAR)¹⁾. For comparison I used the result of WANG HWEI-WEN's²⁾ and my studies on the parietal lobe of fifty Dutch mesocephalics.

On the mesial wall of the hemispheres the compression of the parietal lobe in an occipito-frontal direction is shown by the course of the parieto-occipital sulcus. The best way to express this relation is to draw a line through the parieto-occipital sulcus and to elongate the basal callosum line backward, so that it intersects the parieto-occipital and then to measure the posterior angle between those lines. I propose to call this angle the "parieto-occipital angle" (see plate I, II, and III).

The value of this angle in the dolichocephalic Australian aboriginals brain, preserved and halved in the skull, as photographed by FLASHMAN,³⁾ appears to be 38°. In ten of my Dutch mesocephalics the average was 44.6°, in my Dutch brachycephalics the average is 49°, in a Dutch

¹⁾ J. SHELLSHEAR. The evolution of the parallel sulcus. Journ. of Anatomy, Vol. 61, 1927.

²⁾ WANG HWEI-WEN and KAPPERS. Some features of the parietal and temporal lobe of the human brain and their morphological significance. China medical Journal, September, 1924.

³⁾ FLASHMAN. The relation of brain to skull with a special reference to the Australian aboriginal. Report of the pathological laboratory of the Lunacy Department of N. South Wales, Vol. III, 1916.

brachycephalic, fixed in the skull, it was 58° . In my Armenians it varies from 47° to 63° with an average of 54.0° .

As a consequence of the forward deviation of the parieto-occipital the frontal angle at the junction of this fissure with the calcarina anterior in the Armenians is less obtuse than it usually is in mesocephalics.

The frontal deviation of the parieto-occipital seems to react on the precuneus in such a sense that its mass wedges in more between the ascending hind limb of the calloso-marginal, so that the latter is often lifted up more than usually and the distance between the hind part of the calloso-marginal and callosum is larger than in dolichocephalics, a fact also correlated with the compensation in height of the brain and skull (c.f. brain I, II and VI). Mrs. VAN BORK-FELTKAMP¹) found the same in the (hypsicephalic) Chinese brain.

This compression of the mesial parietal wall may be also proved in a way, as used by CUNNINGHAM to control what he calls the parietal and occipital indices of the brain (l.c. p. 54), i.e. by comparing on the mesial edge of the brain the distance between the Rolandic indentation and parieto-occipital indentation on one hand and the distance between the latter and the lower edge²) of the occipital lobe on the other. I found the average relation between these values in the mesocephalic Dutch to be (with great variations) 5.2 occ. : 5.0 par. (1 : 1) in the Armenians 3.9 occ. : 2.9 par. (1 : 0.75), in a Dutch brachycephalic (see plate I) 1 : 0.8, so that in the brachycephalics the parietal length is more compressed than the occipital. The difference in the occipital lobe of these brains and mesocephalic brains lies more in the steeper course of this lobe in the Armenians than in the size of its circumference.

As an indication of a pressure on the occipital lobe Mrs. VAN BORK mentioned in the Chinese the tendency of the posterior calcarine fissure to form a sharp knee, pointing dorsally, sometimes provided with a processus acuminis, a phenomenon more observed in those hypsicephalic brains than in the Dutch, although also here — and even in Australian aboriginals — flexures of the calcarine often occur. Although also in my Armenians slight flexures are very common (ten hemispheres) only in two hemispheres (Brain VI) did a sharp knee occur. In both hemispheres of one brain³) the flexure went downward, in both hemispheres of another brain (V) the calcarina posterior was straight.

A striking feature of the calcarina posterior in my Armenians is its tendency to run quite a long distance on the convexity (in ten of sixteen hemispheres). In one case (N^o. VI r.) this extension ran along the whole lower edge of the occipital lobe for about 5 cm. Besides this fissure has, in all cases except one, a bifurcation on the convexity, in one case also

¹) Mrs. VAN BORK-FELTKAMP. Uitkomsten van een onderzoek van een zestigtal hersenen van Chineezers. Uitgeversmaatsch. VERSLUYS, Amsterdam. Inaugural dissertation, Amsterdam, 1930.

²) This method seems less exact than the use of the parieto-occipital angle, as the determination of what should be taken as the lower edge of the occipital lobe is more or less arbitrary.

³) Brain Larohe; not photographed.

perpendicular branches on the mesial wall. As these features are so frequent, they may be a result of the occipito-frontal compression.

The lunate sulcus is very evident in thirteen of the sixteen hemispheres, six times on the left and seven times on the right. Apparently there is no predominance of this sulcus on the left as occasionally found in other races e.g. Dutch. Also the ypsiliform fissure or vestiges of it are very frequent, but the prelunate is rare (clearly developed in five cases only) which probably again has to be considered as a result of the occipito-frontal compression of the parietal lobe.

Concerning the inferior *occipito-temporal region* I may first mention the vertical position of the uncus hippocampi as often observed in high brains (Mrs. VAN BORK, KURZ).

The occipito-temporal and collateral sulci, in addition to the usual variations, show a great tendency to making transverse branches (cf. also Mrs. VAN BORK's dissertation).

The orbital surface of the brain, as appears from my photo's, is fairly broad — and the orbital fissures very well developed. The "fissure en hache" of BROCA is clearly pronounced, and in some cases even has a double outer limb. Also my subfrontal fissure is very evident in most cases (see e.g. brain I, VI and V).

As far as concerns the frontal lobe I cannot detect any difference from the Dutch, even no signs of pressure, which seems to exert its influence chiefly behind the Rolandic fissure, as appears from my description. This may be correlated with the fact that the brachycephaly of the Armenians is of the type with short postauricular development and fairly large frontal development, which was recognized by FRETZ¹⁾ as the dominant form of brachycephaly.

¹⁾ FRETZ. Nouvelles observations sur l'hérédité de l'indice céphalique. IIIième Session de l'Institut international d'anthropologie tenue à Amsterdam, Sept. 1927. Rapport publié en 1928.

Anthropology. — *Contributions to the Anthropology of the Near-East. II. The spread of brachycephalic races.* By C. U. ARIËNS KAPPERS.

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

With regard to the "Armenoid" character of several groups of the Near-East population, first emphasized by VON LUSCHAN¹⁾ and confirmed by SELIGMAN²⁾, DUDLEY BUXTON³⁾ and others, I studied the spread of the brachycephalic as well as of the dolichocephalic races in Western Asia and Lower-Egypt.

Of the first group I measured 654 individuals (136 Armenians, 206 Lebanese, 80 Druses, 136 Alouites, 19 Khaldeans and 102 Irakkians). For the frequency curve of the Armenian indices I refer to my first contribution, where CHANTRE's⁴⁾ identical curve is also reproduced.

I add here the result of my measurements of other groups, beginning with 182 male and 24 female Lebanese, all adults or at least above 15 years.

Groups	l.	w.	h.	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
Lebanese ♂	18.19	15.44	13.26	84.88	85.87	72.90
Lebanese ♀	17.47	14.92	12.56	85.40	84.18	71.89

Comparing this with my results concerning the Armenians, we see

Groups	l.	w.	h.	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
Armenians ♂	18.20	15.54	13.13	85.38	84.49	72.14
Armenians ♀	17.51	15.01	12.38	85.72	82.48	70.70

¹⁾ VON LUSCHAN. Die anthropologische Stellung der Juden. Correspondenzblatt der Deutschen anthropologischen Gesellschaft 1892.

The same. The early inhabitants of Western Asia. Journ. of the Royal Anthropol. Instit. of Great Britain and Ireland, Vol. 41, 1911 (see also Smithsonian Report for 1914, Washington 1915).

The same. Völker, Rassen und Sprachen, Berlin 1922.

²⁾ SELIGMAN. The physical characters of the Arabs. Journ. of the Royal anthrop. Instit. of Great Britain and Ireland, Vol. 47, 1917.

³⁾ DUDLEY BUXTON. The peoples of Asia, London, New-York, 1930.

⁴⁾ CHANTRE. Recherches anthropologiques en Asie occidentale. Lyon. Archives du Museum d'histoire naturelle. Tome VI, 1895.

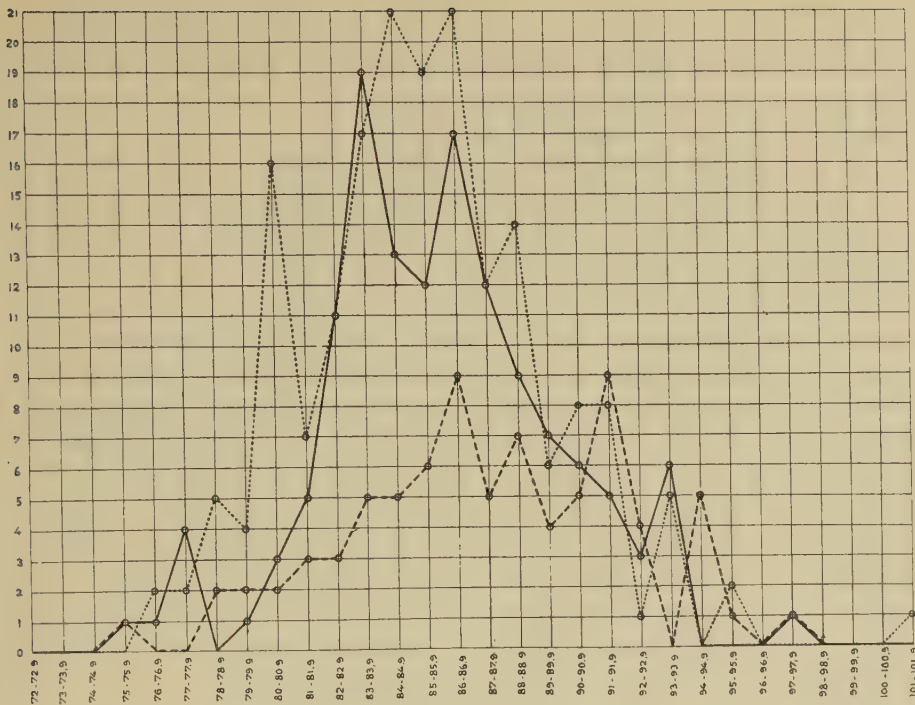


TABLE I. Dotted line Lebanese, full line Armenians, broken line Druses.

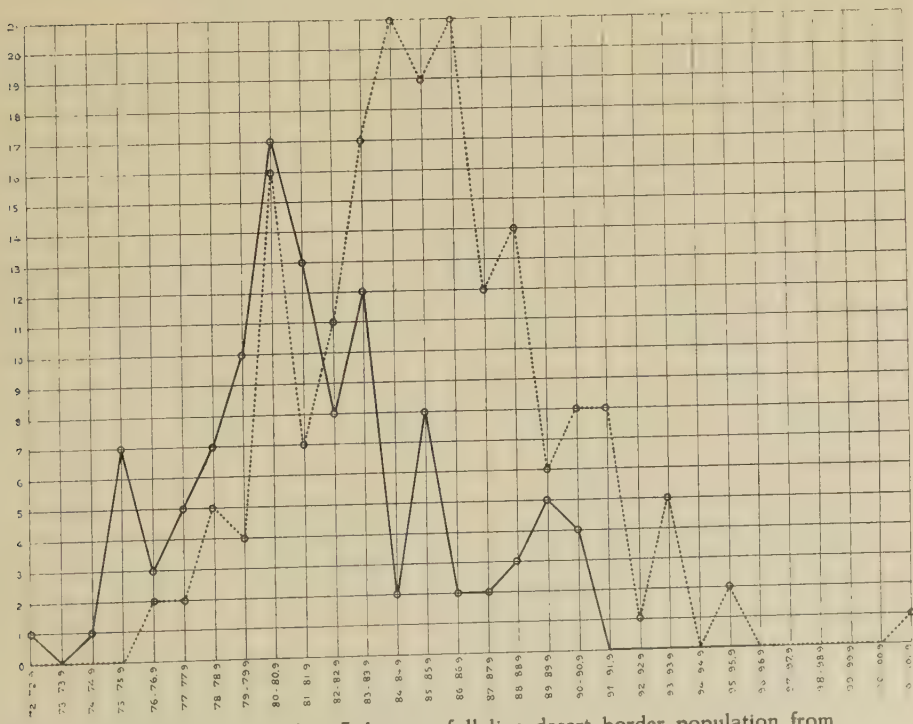


TABLE II. Dotted line Lebanese, full line desert border population from Homs to Damascus.

that there is only a very small difference. With the Lebanese the l. w. indices are slightly lower, specially those of men. Also the sexual index difference in the Lebanese is somewhat more pronounced than in the Armenians in favor of the females.

The first factor is due to the fact that the brachycephalic population of the Lebanon is mixed with a subbrachycephalic (ind. 80—80.9) population as appears from a superposition of the Armenian and Lebanese (male) frequency curves. (Table I).

The question as to the origin of this admixture is answered by the second curve that gives the frequency of the l. w. i. as found at the foot of the mountainous country on the desert border from Homs to Hauran, including the population of Damascus, a large town, the population of which is rather mixed but shows a typical top at 80—80.9.

Superposing the Lebanese and desert border curve we see that the main top of the latter coincides exactly with the additional top in the Lebanese curve, so that apparently the population of Damascus causes the extra top of the Lebanese population.

Now excluding from the Lebanese the population forming this extra top, I got the following indices for what might be called the "real" Lebanese.

Groups	l.	w.	h.	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
"Real" Lebanese ♂	18.06	15.53	13.18	85.99	84.87	72.98
„Real" Lebanese ♀	17.41	14.95	12.55	85.87	83.95	72.08
Aloui ♂	17.85	15.27	13.10	85.66	85.67	73.39

The l. w. i. in the real Lebanese appears to be very much the same as in the Armenians. And if I abstract from my 136 Armenians also the (only 10) Armenians in which the index was lower than 81, we see that the "real" Lebanese and the "real" Armenians also resemble each other in so far as in both the female l. w. index is slightly lower.

Groups	l.	w.	h.	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
Real Armenians ♂	18.14	15.62	13.11	86.11	83.93	72.27
Real Armenians ♀	17.48	15.04	12.36	86.04	82.18	70.71

¹⁾ The population of the Alouite mountains is closely related to and partly consists of the Ansareyeh or Noussareyeh of whom 48 were measured by CHANTRE (l. c. p. 145), who found in males a l. w. index of 84.43, in females 85.79. I can confirm his statement that they are rather hypsicephalic.

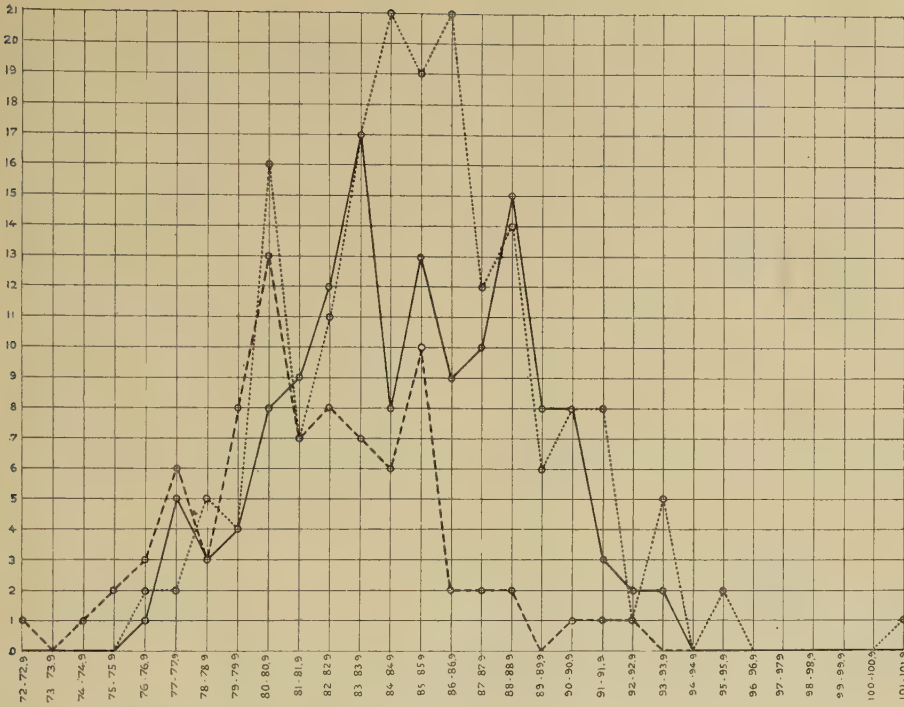


TABLE III. Dotted line Lebanese, full line Aloui, broken line Irakkians.

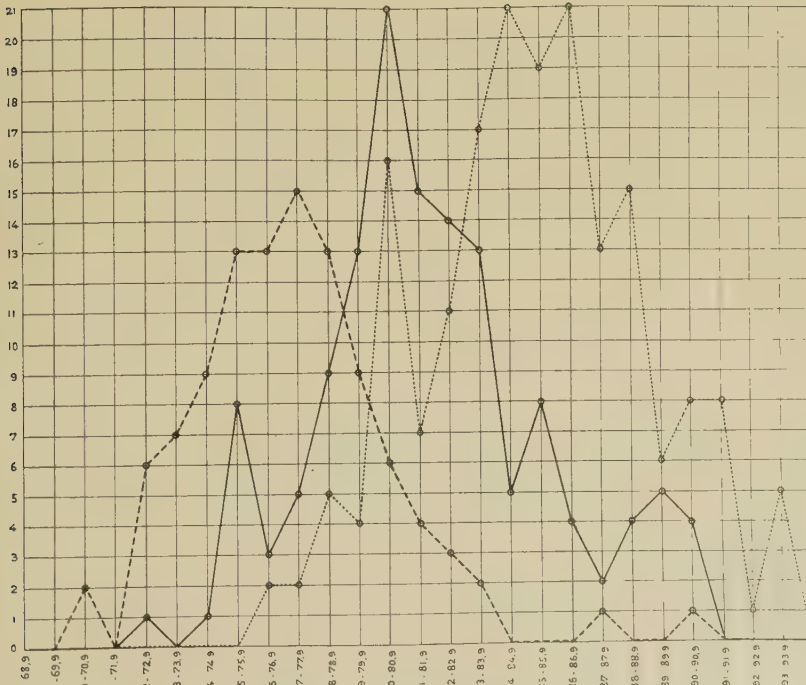


TABLE IV. Dotted line Lebanese, full line desert border population (from Aleppo to Damascus), broken line Beduins of the Syrian desert.

I tested the influence of the desert border population on the mountainous population still in another way, viz. by measuring the mountainous population north of Tripolis (the Aloui) chiefly at Safitah and Bishrayeh. This population is further away from the desert border cities (in casu Hama and Homs). Table III gives a superposition of the Aloui and Lebanese curves, from which appears that the additional desert border-top is failing with the Aloui.

The brachycephalic type is most pronounced with the Druses (Table I), who do not mix at all with other groups. Their exquisite hyperbrachycephaly may be the effect of inbreeding. Their measures and indices are:

Group	l.	w.	h.	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
Druses ♂	17.82	15.55	12.85	87.26	82.9	72.11

So far as concerns the population of the Syrian mountains and coast. Whereas the Beduin population between the Alouite and Lebanon mountains on one side, and the Mesopotamian plains of the Euphrates and Tigris on the other, is exquisite mesocephalic, on which I shall deal in a later paper, in Mesopotamia or Irak itself the population is strongly mixed, specially in the South.

In the North (apart from the Turkish population) we have the brachycephalic Khaldeans or Syriani, who consider themselves as the descendants of the ancient Assyrians and occasionally call themselves so. I could only examine a small number of this group, but the indices in this group are very striking, in the male as well as in the female.

Group	l.	w.	h.	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
Khaldeans ♂	17.8	15.31	12.87	86.01	84.06	72.3
Khaldeans ¹⁾ ♀	17.06	14.70	12.77	86.17	86.87	74.85

Here we find indices that closely resemble the Armenian indices ²⁾.

The other Mesopotamian inhabitants or Irakkians show a great mixture of brachycephalic and mesocephalic people, as appears from the adjoining curve (III).

Of the 102 Irakkians (from Mosul, Bagdad, and Bassorah) I measured (83 ♂ and 19 ♀, all adults) 38 had an index lower than 81. Table III

¹⁾ Among the women three had an index lower than 81.

²⁾ CHANTRE (l.c.), who examined 27 Khaldeans from Turkey and Persia found a higher index (89.5 in men, 88.69 in women).

shows that they belong to the desert border population (index 80—80.9) and to the Adnan Arabs to which also the Beduins of Northern Syria (top at 77—77.9) belong. The measures and indices of the 64 brachycephalics were:

Group	l.	w.	h.	l. w. i.	w. h. i.	l. h. i.
Irakk. ♂	18.25	15.42	13.17	84.50	85.34	72.16
Irakk. ♀	17.10	14.56	12.89	85.14	88.53	75.40

These are the Kohtan Arabs whose brachycephalic character was already stated by MOCHI¹⁾ and SELIGMAN²⁾, who found them spreading as far as Yemen. SELIGMAN stated the presence of brachycephalics in these regions from early historic times, supposing a relationship of this population with the ancient Hittite-Sumerian population of Assyria and Babylon.

As the Hittite-Sumerian races according to archeologists invaded Mesopotamia in protohistoric times from the North-East, i.e. from the mountainous regions adjacent to the Caspian sea, a greater amount of brachycephalics may be expected in Northern Mesopotamia than in Southern Mesopotamia which seems to be true considering the Khaldeans as belonging to the same group.

It is well known that the Hittites settled also in Syria, specially in the Alouite and Lebanon mountains, but that they only stayed a shorter time in what now is called Palestine. In connection herewith it is interesting to see that, whereas the Alouite and Lebanon population is brachycephalic, with the Arabic population of Palestine the l. w. index decreases and with the Egyptian Arabs³⁾ attains the type of the mesocephalic Adnan Arabs as the superposition of my Lebanese, Palestinian and Lower Egyptian Arab curves shows (Table V).

The same is seen as we proceed Eastward from the Lebanese mountains to the desert (Table IV).

It is supposed (VON LUSCHAN, BREASTED) that of the brachycephalic groups specially the Armenians kept the greatest resemblance to the Hittites, a supposition that seems to be recently confirmed by the finding of Hittite skulls, by Dr. RICHARD MARTIN near Boghaz Keui.⁴⁾ The adjoining

¹⁾ MOCHI. Sull'antropologia degli Arabi. Archivio per l'Antropologia e l'Etnologia. Vol. 37, 1907.

²⁾ SELIGMAN. The physical character of the Arabs. Journal of the Anthropological Institute Vol. 47, 1917.

³⁾ CHANTRE (Recherches anthrop. en Egypte p. 196) found still lower l. w. index averages for his Arabs of Lake Menzaleh (74.48) and the Aulad Ali from the Delta (75.37).

⁴⁾ Personal communication by one of the members of this expedition.

pictures of two Armenians which I photographed at Beirut shows this resemblance to Hittite pictures from Egyptian monuments of about 1300 B. C. taken from COWLEY's work on the Hittites.¹⁾

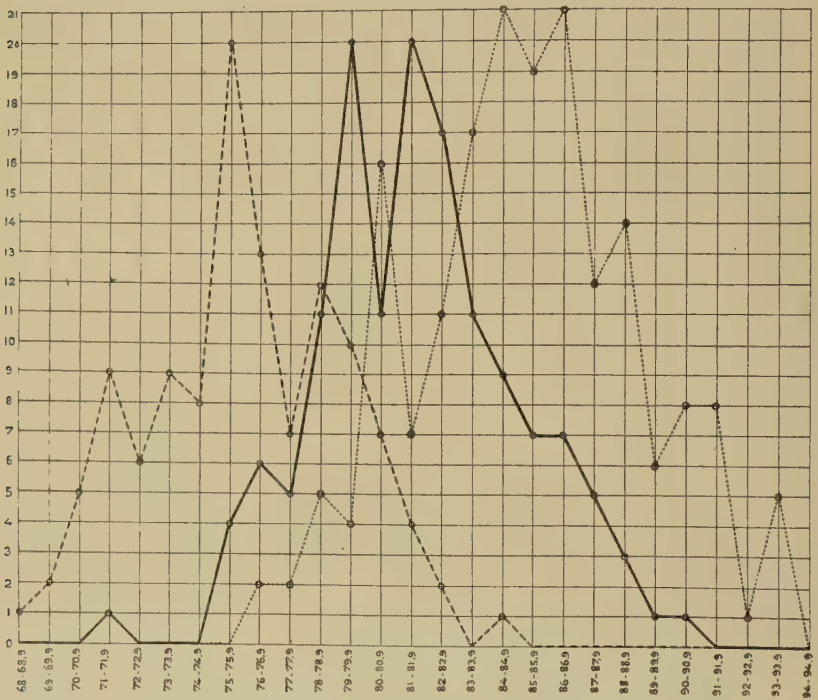


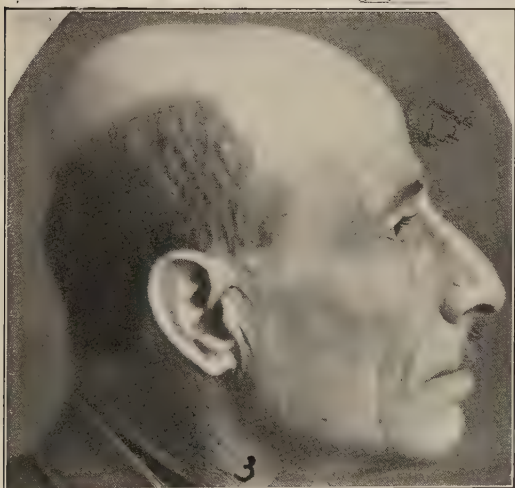
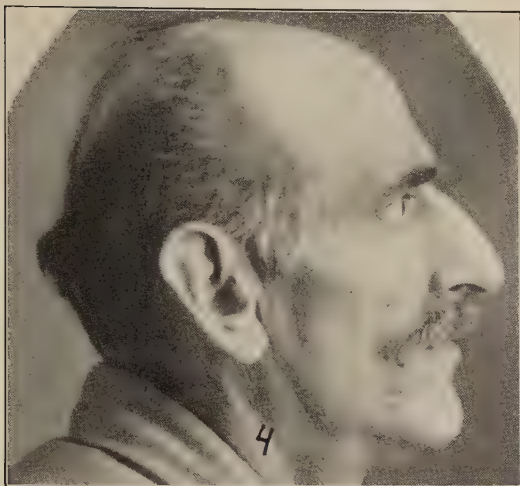
TABLE V. Dotted line Lebanese, full line Palestinian Arabs, broken line Arabs from Egypt.

I may not end without calling attention to the fact that the Armenian curve shows two tops, one at 83—83.9, the other at 86—86.9. The probability that these tops have the value of a reality has been tested by a mathematician and confirmed so that there is some reason to accept that among the Armenians two essentially different groups²⁾ occur, one with an average l.w. index of 83.48 (± 1.16), the other with an average l. w. index op 86.53 (± 1.49).

¹⁾ COWLEY. The Hittites. Schweich lectures for 1918. Oxford University Press, 1920.

²⁾ It is often supposed that the occipital position of the head on a hard cushion in early childhood favors and increases brachycephaly (see CHANTRE l.c. p. 49). I shall not enter here upon this point, so often discussed also for other races (cf. R. BENNET BEAN and C. C. SPEIDEL, Anat. Record, Vol. 25, 1923, p. 301), but I do not believe in this factor as a source of racial brachycephaly.

C. U. ARIËNS KAPPERS: CONTRIBUTIONS TO THE ANTHROPOLOGY OF
THE NEAR-EAST. II. THE SPREAD OF BRACHYCEPHALIC RACES.



Physics. — *Photo-elektrische Intensitätsmessungen im Quecksilberspectrum. II.* Von L. S. ORNSTEIN und J. F. CUSTERS. (Mitteilung aus dem Physikalischen Institut der Universität, Utrecht.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930.)

1. *Einleitung.*

In einer vorhergehenden Mitteilung ¹⁾ wurden Intensitätsmessungen an Quecksilberlinien als Funktion von Stromstärke und Druck veröffentlicht, wobei wir einige Schlüsse ziehen konnten, auf die wir jetzt näher eingehen müssen, weil sie zum Teile abgeändert werden.

Die Messungen wurden an einigen Linien des Bogenspektrums vorgenommen, das in einer Kapillare von 3 c.m. Länge und 1,5 m.m. Diameter erregt wurde.

Wir fanden bei den Tripletlinien ein eigentümliches Verhalten der Intensität I als Funktion der Stromstärke i bei konstantem Druck p , vorausgesetzt, dass die Stromstärke genügend klein ist und der Druck in einem bestimmten Bereich liegt. Wurde die Stromstärke genügend klein, dann nahm die Intensität pro Einheit der Stromstärke I/i mit fallendem i stark zu im Gegensatz zum Verhalten bei einem andren Druck, wo I/i bis zur kleinsten Stromstärke, bei der die Intensität noch gemessen werden konnte, abnahm. Siehe die beiden Figuren 7 und 8 im vorigen Artikel.

Die Messungen der Intensität einer Singulettlinie als Funktion der Stromstärke bei konstantem Druck zeigten im ganzen untersuchten Bereich ein Wachsen von I/i mit fallendem i , und wir konnten das starke Ansteigen bei kleinen Stromstärken der Anregungsfunktion des betreffenden Anfangszustandes zuschreiben, was wir den am Entladungsrohr vorgenommenen Spannungsmessungen als Funktion der Stromstärke entnehmen.

Bei kleinen Stromstärken, abhängig vom Druck, nimmt die Spannung am Rohr plötzlich schnell zu, womit eine grössere mittlere Geschwindigkeit pro mittlerer freier Weglänge des Elektrons verknüpft ist, und woraus das Wachsen von I/i mit fallendem i folgt. Im Bereich der kleineren Stromstärken wird also die Intensität nicht nur durch die Stromdichte bestimmt, sie hängt auch von der Spannung ab. Gleichzeitig nahmen wir an, dass auch bei den Tripletlinien die Anregungsfunktion eine Rolle spielt, obgleich es umgekehrt nicht zu erwarten ist, dass unseren Messungen die richtige Anregungsfunktion entnommen werden kann, weil

¹⁾ L. S. ORNSTEIN und J. F. CUSTERS, *Proc. of the Royal Soc. of Amsterdam*, Vol. 33, N^o. 5, 473, 1930.

einerseits die Elektronengeschwindigkeiten sehr verschiedene Werte annehmen können, andererseits der Druck nicht genügend klein ist, und ein Elektron wiederholt Zusammenstöße erleiden wird. Grundsätzlich wird jedoch die Anregungsfunktion in der Erscheinung einbegriffen sein.

Unsern Schluss jedoch, dass das genannte Verhalten nur in einem bestimmten Druckbereich auftritt (Siehe Fig. 9 im vorerwähnten Artikel), müssen wir jetzt zurücknehmen, weil aus den fortgesetzten Spannungsmessungen hervorgeht, dass bei jedem Druck, vorausgesetzt, dass die Stromstärke genügend klein wird, das Steigen von I/i mit fallendem i zu erwarten ist.

2. Die Spannung als Funktion von Stromstärke und Druck in Zusammenhang mit der Intensität als Funktion von Stromstärke und Druck.

Wie in der genannten Mitteilung erwähnt wurde, ist die Spannung mit einem Präzisions-Voltmeter im Bereich der grösseren Stromstärken gemessen worden, während wir ein geeichtes statisches Voltmeter bei den kleineren Stromstärken benutzten, weil hier ein Instrument erforderlich ist, das wenig oder gar keinen Strom führt.

Aus Fig. 1, in der für verschiedene Drucke der Zusammenhang zwischen Stromstärke i und Spannung V aufgetragen ist, ersieht man, dass mit fallendem Druck der Gipfel der (V, i) -Kurve sich nach höheren Stromstärken verschiebt; gleichzeitig sinkt die „Gipfelspannung“, bis der Druck so klein geworden ist, dass die Gipfelspannung von neuem wächst, obgleich der Gipfel sich immer nach höheren Stromstärken weiterschiebt.

Die Betriebsspannung war 440 Volt, während bei den kleineren Drucken 1000 Volt benutzt wurde. Sichergestellt wurde, dass die (V, i) -Kurven sich nicht merklich änderten, wenn man 440 oder 1000 Volt benutzte. Die Kurven ändern sich bestimmt, wenn man ein Induktorium anwendet um das Rohr zu zünden. Diese Schwierigkeit wurde umgangen, indem wir warteten bis das Rohr bei Einschaltung der Spannung zündete; die starken Felder eines Induktoriums verursachen Wundladungen, welche die Spannung am Rohr beeinflussen.

Wenn man von der Annahme ausgeht, dass das Wachsen von I/i mit fallendem i durch die Anregungsfunktion des betreffenden Zustandes zu erklären ist, kann man aus dem (V, i) -Kurvensystem ableiten, dass diese Erscheinung bei jedem Druck zu erwarten ist.

Bis jetzt konnten wir diesen Schluss noch nicht ziehen, weil die Apparatur bei Stromstärken kleiner als 0,5 m.A. nicht genau arbeitete.

Mit Hilfe einer Philips-Photozelle, welche empfindlicher ist als die bis jetzt benutzte, konnten wir bis hinab zu 0.1 m.A. (bisweilen bis 0.02 m.A.) mit Genauigkeit das Verhalten von I als Funktion von i verfolgen, und wir fanden bei einem Druck von 0,914 m.m., dass bis zu den kleinsten

Stromstärken I/i mit fallendem i wächst. Siehe Fig. 2, in der I und I/i als Funktion von i für die Linie: $\lambda = 5461 \text{ \AA}$ aufgetragen sind.

Es ergibt sich also, dass mit dem Wachsen des Druckes der Einfluss der Anregungsfunktion erst bei kleineren Stromstärken merklich wird, bis

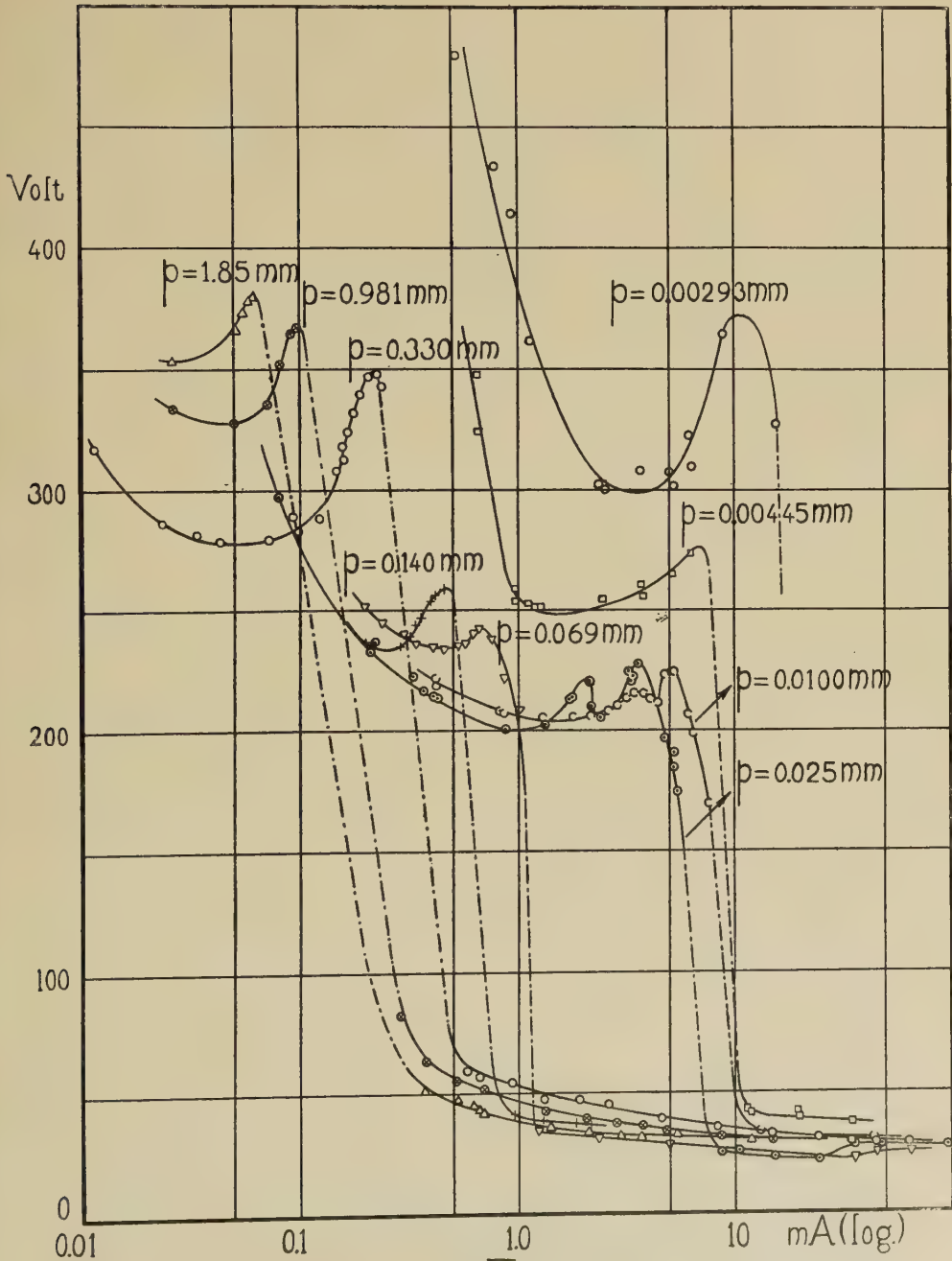


Fig.1

ein Druck erreicht wird, wobei man die Erscheinung nicht mehr verfolgen kann, weil die erforderliche Stromstärke so klein ist, dass die Grenze der Messgenauigkeit erreicht ist. Umgekehrt wird mit der Abnahme des Druckes das Auftreten der Erscheinung sich nach höheren Stromstärken verschieben; infolge der mit dem Druck sehr schnell abnehmenden Intensität

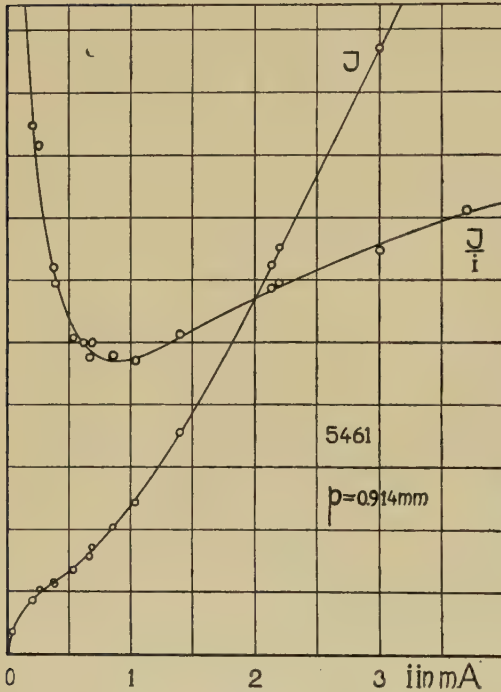


Fig. 2

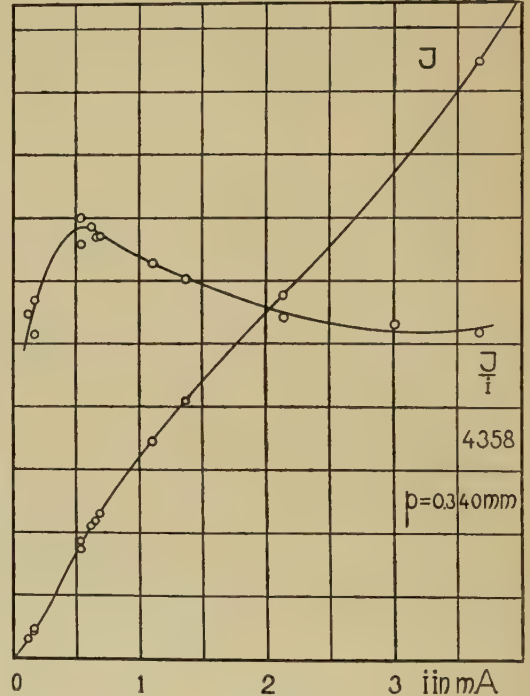


Fig. 3

(Siehe die Figuren 5 und 6 im vorigen Artikel) wird jedoch auch hier schnell die Grenze der Genauigkeit erreicht.

Wie genau die $(I/i, i)$ Kurve der (V, i) Kurve folgt, ersieht man aus den Intensitätsmessungen der Linie $\lambda = 4358$, bis hinab zu 0,1 m.A., wie in Fig. 3 dargestellt ist.

Während wir früher fanden, dass bis 0,5 m.A. I/i mit fallendem i wächst, ergibt sich jetzt, dass I/i von neuem sinkt, wenn i noch weiter abnimmt, was die Folge der kleineren Spannung am Rohr ist. Siehe Fig. 1 bei dem Druck 0,330 m.m.

Zum Schluss findet man in Fig. 4 ein Beispiel des Verhaltens der Linie $\lambda = 4358$ bei einem sehr niedrigen Druck, nämlich 0,00254 m.m. Die Streuung der gemessenen Punkte wird teilweise verursacht durch die Tatsache, dass wir ein Induktorium verwenden mussten um das Rohr zu zünden, teilweise durch die Unruhe des Galvanometerbildchens, welche, wie schon erwähnt worden ist, stets auftritt; der grösste Ausschlag des

Galvanometers ist nur 25 m.m. bei einer Stromstärke von 150 m.A. Die $(I/i, i)$ Kurve wurde aus der gezogenen (I, i) Kurve berechnet.

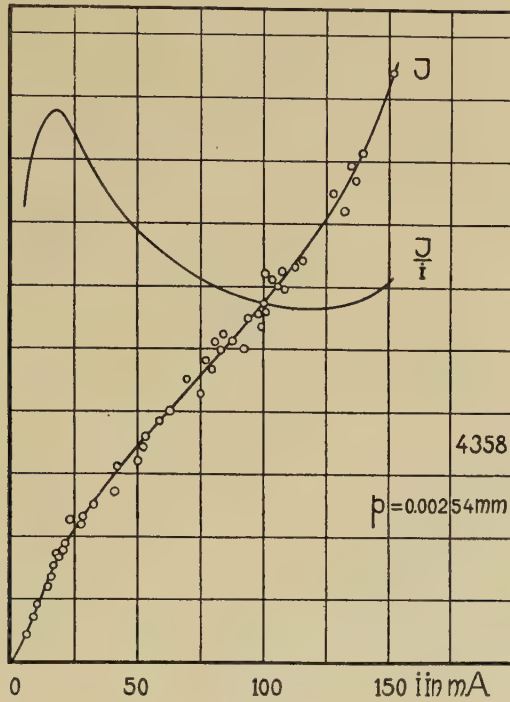


Fig. 4

Auch diese Kurve ist in guter Uebereinstimmung mit dem Verhalten der Spannung bei diesem Druck, wie aus Fig. 1 ersichtlich ist.

Auch jetzt möchten wir Herrn Cand. Phil. P. HARINGHUIZEN herzlich danken für seine Hilfe bei den Messungen.'

Physics. — *On the Crystal Structure of Para-hydrogen at liquid helium temperatures.* By W. H. KEESOM, J. DE SMEDT and H. H. MOOY.
(Communication N^o. 209d from the Physical Laboratory at Leiden.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

§ 1. *Experimental arrangement.* We made use of the apparatus for the X ray investigation by the DEBIJE-SCHERRER method of solidified gases at the temperature of liquid helium, described in our report on the crystal structure of neon ¹⁾.

In the first experiments with hydrogen the gas was admitted through the capillary C and the outer cooling screen Sc_e (Fig. 1 of Comm. N^o. 203e), but this proved to work unsatisfactorily as the hydrogen solidified partly at places where the temperature still was high enough for the hydrogen to have an appreciable vapour pressure, causing the helium to boil away rapidly.

Therefore we removed the capillary C and admitted the gas in very small quantities through K_2 directly into the camera. We thus succeeded in depositing the hydrogen on the copper rod Q, and in keeping the solid hydrogen there. The crystals were not small enough to give rise to homogeneous lines.

Immediately after crystallizing the solid hydrogen was so transparent, that it was a bit difficult to judge the thickness of the sample. In the course of an exposure it changed very gradually into a mass which had the appearance of milk-glass.

In view of the extremely small density of this solid and the long duration of an exposure the utmost precautions were taken that no lines originating from traces of impurities would appear on the films.

We are greatly indebted to Mr. A. BIJL, assistant of the Leyden Cryogenic Laboratory, who was so kind to prepare for each experiment a quantity of para-hydrogen. The hydrogen was of the highest degree of purity obtainable. This was controlled spectroscopically.

Still we observed after the first experiments that the solid mass on the copper rod evaporated in two parts; the first and greatest part shortly after the liquid helium in the cryostat was gone, the second part a few minutes later. This did not occur any longer when the camera containing the photographic film was kept highly evacuated for a sufficiently long time (generally four days) before the exposure.

For a control we made a film of the copper rod alone which was radiated during the last $4\frac{1}{2}$ of 9 hours, during which it was kept on the temperature

¹⁾ These Proc. 33, 255, 1930. Comm. Leiden N^o. 203e.

of liquid helium. Only the DEBIJE-SCHERRER lines from copper have been observed.

Our X -ray source was a Philips Bouwerstube, type $B\ 1$. Radius of the camera 30.0 mm.

§ 2. *Experimental results.* The three films, we have obtained, will be discussed separately. The measurement of the line distances has been done by two observers; their readings were concordant within $\frac{1}{2}\%$, though the lines are very granular.

Film I; copper $K\alpha$ radiation, exposure 6 hours. Voltage 26 K.V., Current 12 mA., Temperature 4.2°K .

TABLE I.

Numbering	Intensity	Line distance in $\frac{1}{10}$ mm.
1	m	270
2	f	290
3	f	312
4	m	336
5	m	350
6	vf	520
7	vf	597
8	vf	677

Line Number 1 is the parasitic line of 3, N^0 . 2 the same of 4.

Film II: unfiltered Fe radiation, $7\frac{3}{4}$ hours exposure, 26 K.V., 12 mA., temperature 4.2°K . Thickness of the sample 3.0 mm.

TABLE II.

Numbering	Line distance
1	329
2	375
3	433
4	672
5	864

Probably the lines 1 and 2 are parasitic; as a whole the lines were so faint and granular that this film has little value.

To get better intensity we thought it desirable to reduce the temperature. The reduction in temperature was limited by the need of having the helium last for at least 4 hours, the minimum time for irradiation.

Film III: we obtained a relatively very good film with 5 hours exposure, the liquid helium boiling under a pressure of 7 mm corresponding to a temperature of 1.65° K. Unfiltered *Fe* radiation, 26 K.V., 10 mA., thickness of the sample 3.0 mm.

TABLE III.

Numbering	Line distance	Intensity
1	294	vf
2	313	f
3	350	s
4	375	m
5	393	m
6	410	m
7	439	s
8	561	vf
9	670	vf
10	730	vf

Nos. 3 and 4 can be explained as $K\beta$ -lines corresponding to 5 and 6 as $K\alpha$ -lines, Nos. 1 and 2 probably are parasitic to Nos. 3 and 4¹⁾.

§ 3. *Calculation of spacings.* The method of calibration of the camera by making a film of a solid of known crystal structure and of about the same density as the substance investigated (cf. Comm. N^o. 203e § 2) cannot be used in this case.

The usual correction formula's for the thickness of the sample hold good only for substances of high density and cylindrical form of the sample²⁾.

Therefore we proceeded in the following way. We made exposures of CO_2 at the temperature of liquid air and of CO at the temperature of liquid hydrogen and calculated from the known crystal structures³⁾ the

¹⁾ With possibly an addition in intensity due to tungsten $L\alpha$ -lines (from tungsten of the hot cathode being deposited on the anti-cathode) corresponding to Nos. 5 and 6.

²⁾ Compare the cross-section of the copper rod given in Fig. 1b of Comm. N^o. 203e.

³⁾ For CO_2 : J. DE SMEDT and W. H. KEESOM, Comm. Leiden Suppl. N^o. 53a.

For CO : L. VEGARD, Zs. f. Phys. 61, 185, 1930. An independent X-ray analysis of CO , made by us, had yielded the same results.

necessary corrections for each case. The same was done for the copper lines from the rod. We arrived at these conclusions:

a. The correction to be applied in case the solid that covers the rod has a density of 1.5 is practically independent of the line distance. A very faint maximum amounting to 4.3 mm in the region of line distances from 450 tot 800 ($1/_{10}$ mm) is just perceptible.

b. When the density is about 1.0, this maximum is much more striking. whereas the correction values are much smaller (3.4 mm maximum).

c. With the lines from the copper rod (and probably also for a solid of infinite small density covering this rod) the correction for line distances greater than 800 decreases rather strongly. This will be the case too for line distances smaller than 450. The absolute values in the region from 450 to 800 were about the same as for CO (max. 3.1 mm). With the help of these data a correction curve was constructed for solid hydrogen.

A comparison of the calculated spacings of the three films is given below:

TABLE IV.

Film III		Film I		Film II	
Nº.	spacing	Nº.	spacing	Nº.	spacing
5	3.20	3	3.22		
6	3.07	4	2.99		
7	2.86	5	2.86	3	2.90
8	2.23 ⁵				
9	1.88	6	1.87 ⁵	4	1.87 ⁵
10	1.73 ⁵	7	1.67		
		8	1.49 ⁵	5	1.49 ⁵

Making allowance for the fact that Film III is by far the most trustworthy we accepted as the basis for a calculation of the crystal structure of para-hydrogen the spacings: 3.20; 3.07; 2.86; 2.23⁵; 1.87⁵; 1.73⁵ and 1.49⁵.

§ 4. *Determination of the translation-lattice.* KAMERLINGH ONNES and CROMMELIN ¹⁾ gave for the density of solid hydrogen at 14° K. the value 0.0808. If according to Comm. N^o. 184a (p. 6, note 2) the difference in density between solid and liquid hydrogen is calculated from the melting heat and the inclination of the melting curve a value 0.0788 is found. As a

¹⁾ H. KAMERLINGH ONNES and C. A. CROMMELIN, These Proceedings 1913, Comm. Leiden N^o. 137a.

further interesting datum about solid hydrogen we mention that WAHL¹⁾ observed that it is optical isotropic at the melting point.

Our attempts to find a simple cubic structure, giving a density in the neighbourhood of 0.08 and explaining the observed spacings have been unsuccessful.

We then tried the HULL-DAVEY graphs for hexagonal and tetragonal systems.

A hexagonal close-packing structure with $a = 3.75$ A.U., $\frac{c}{a} = 1.633$ was found to give a good agreement between observed and calculated spacings, see Table V. With two molecules in the elementary cell we compute for the density in the neighbourhood of 2° K: 0.088, a value which might be estimated not to be improbable.

We included in table V as calculated intensities the products S^2v , where v = number of cooperating planes, S = structure-factor. The atomic

TABLE V.

Indices	Spacings calcul.	Spacings observed	Intensity calc.	Intensity obs.
100	3.24 ⁵	3.20	0.75	m
002	3.06 ⁵	3.07	1	m
101	2.87	2.86	4.5	s
102	2.23 ⁵	2.23 ⁵	1.5	vf
110	1.87 ⁵	1.87 ⁵	3	vf
103	1.73	1.73 ⁵	4.5	vf
200		—	1.5	—
112		—	6	—
201		—	4.5	—
004	1.53	1.49 ⁵	1	vf?

structure of the molecules was not taken into consideration, we have treated them as equivalent to atoms with two electrons. These values are given only for the sake of completeness, as a comparison of them with the observed intensities is not of much use. We pointed out already that the radiated crystal mass must have been formed by a restricted number of rather big crystallites; the faintest lines consist of a few dots.

§ 5. In his interesting paper on the rotational motion of molecules in

¹⁾ W. WAHL, Proc. Roy. Soc. A **88**, 61, 1913.

crystals, PAULING ¹⁾ expects solid hydrogen to have a close-packed structure. His theoretical speculations assuming cubic close-packing are without doubt valid too for the case of hexagonal close-packing.

The question arises if the double-refraction of solid hydrogen is so small that WAHL did not observe it ; or if solid hydrogen has a transformation-point between 4° K. and 14° K.

If, as a preliminary notice of SIMON, MENDELSSOHN and RUHEMANN ²⁾ seems to indicate, the heat capacity of solid para-hydrogen down to 3° K follows a DEBIJE-curve, a transformation point must be considered not to be probable.

We gladly record our thanks to phil. nat. cand. J. W. L. KÖHLER for his assistance in these experiments and calculations, as well as to Mr. G. J. FLIM, chief of the technical staff of the Laboratory, for his intelligent aid in the construction of the apparatus and in the execution of the experiments.

¹⁾ L. PAULING, Phys. Rev. **36**, 430, 1930.

²⁾ F. SIMON, K. MENDELSSOHN und M. RUHEMANN, Naturw. **18**, 34, 1930.

Chemistry. — *Equilibria in osmotic systems in which forces act.* I.

By F. A. H. SCHREINEMAKERS.

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

In deducing and discussing the phenomena which may obtain with the osmosis, we have until now assumed that the membrane is "inactive" in this respect namely that no forces act in it, capable of driving one or more of the substances in some direction or other. When such forces do occur, as may be the case e.g. in living membranes¹⁾, we shall call the membrane "active".

It is also possible to imagine that such driving forces are present in the liquids themselves; then we shall call these liquids "active" also.

Osmotic systems with an active membrane, permeable for one substance only.

We suppose in the osmotic system:

$$L \mid L' \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (1)$$

first an inactive membrane $M(W)$ viz. a membrane, in which no forces act and which is permeable for water only. For this obtains, as we have deduced already before:

A. the water diffuses towards that side of an inactive membrane $M(W)$, where the O.W.A. (osmotic-water-attraction) is greatest. When both liquids have the same O.W.A., no water diffuses

From this it appears that the direction in which the water diffuses through an inactive membrane $M(W)$, is determined only by the O.W.A. of the two liquids, consequently by their composition and their pressure; so the nature of the membrane does not influence the direction, in which the water moves. Consequently we may say also:

B. the nature of the inactive membrane $M(W)$ plays no part with respect to the direction in which the water diffuses: this is determined only by the O.W.A. of the two liquids,

We now suppose in the osmotic system:

$$\left. \begin{array}{l} \leftarrow F \\ L | L' \\ \leftarrow \delta \alpha \text{ mol } W \end{array} \right\} \dots \dots \dots (2)$$

1) Compare e.g. J. STRAUB, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 48, 49 (1929).

an active membrane $M(W)$ in which a force F works towards the left; first we still assume with this that all processes coherent with this force, are reversible; later on we shall refer to the meaning of this and the other suppositions. We represent the work, performed by this force, when 1 mol. water diffuses towards the left, by E . If we now suppose that δa mol. water diffuse towards the left, as we have assumed in (2), then this force performs a work $E \cdot \delta a$ on the system. Reversally we may also say now that the system performs an external work $-E \cdot \delta a$.

We now represent the free energy of the two liquids by ψ and ψ' ; their thermodynamical potentials by Z and Z' , their volumina by V and V' and their pressures by P and P' .

If the volumina V and V' of the two liquids are now kept constant, then with this diffusion of δa mol. water, the free energy

of liquid L increases with $\left(\frac{\partial \psi}{\partial a}\right)_v \delta a$

and of liquid L decreases with $\left(\frac{\partial \psi'}{\partial a}\right)_{v'} \delta a$.

As, according to a well-known thesis of GIBBS, the free energy, to which the external work, performed by the system, is added, can only decrease or remain constant,

$$\left[\left(\frac{\partial \psi}{\partial a} \right)_v - \left(\frac{\partial \psi'}{\partial a} \right)_{v'} - E \right] \delta a \leq 0 \quad . \quad . \quad . \quad (3)$$

must be satisfied.

We now represent, in the same way as before:

$$\left(\frac{\partial \psi}{\partial a} \right)_v = -\xi \quad \text{and} \quad \left(\frac{\partial \psi'}{\partial a} \right)_{v'} = -\xi' \quad . \quad . \quad . \quad (4)$$

so that ξ and ξ' represent the O.W.A.'s of the liquids L and L' . It follows from (3) that

$$[\xi - \xi' + E] \delta a \quad . \quad . \quad . \quad (5)$$

must be satisfied now.

Above we have assumed that with the diffusion of δa mol. water, the volumina V and V' remain constant; if, however, the pressures P and P' are kept constant, then the free energy of the system increases with:

$$\left[\left(\frac{\partial \psi}{\partial a} \right)_P - \left(\frac{\partial \psi'}{\partial a} \right)_{P'} \right] \delta a \quad . \quad . \quad . \quad (6)$$

As the volume of liquid L now increases with $\left(\frac{\partial v}{\partial a}\right)_P \delta a$ and that of liquid L' decreases with $\left(\frac{\partial v'}{\partial a}\right)_{P'} \delta a$, the system will now not only perform the work $-E \delta a$, but:

$$\left[P \left(\frac{\partial v}{\partial a} \right)_P - P' \left(\frac{\partial v'}{\partial a} \right)_{P'} - E \right] \delta a \quad . \quad . \quad . \quad (7)$$

As $\psi + pv = Z$ and $\psi' + p'v' = Z'$, it follows from (6) and (7):

$$\left[\left(\frac{\partial Z}{\partial \alpha} \right)_p - \left(\frac{\partial Z'}{\partial \alpha} \right)_{p'} - E \right] \delta \alpha \leq 0 \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (8)$$

If we now take again:

$$\left(\frac{\partial Z}{\partial \alpha} \right)_p = -\xi \quad \text{and} \quad \left(\frac{\partial Z'}{\partial \alpha} \right)_{p'} = -\xi' \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (9)$$

then follows

$$[\xi - \xi' + E] \delta \alpha \leq 0 \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (10)$$

which is in accordance with (5). In the special case that $E = 0$ and the membrane consequently is inactive, (10) passes into:

$$[\xi - \xi'] \delta \alpha \leq 0 \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (11)$$

from which the rules *A* and *B*, mentioned above, have already been deduced before.

To make a simple formulation of (10) possible, we shall first introduce the notions "internal" and "active" O.W.A. of a liquid, also on account of our future discussion of active liquids.

When in system (2) 1 mol. water diffuses from L' towards L , then force F performs a work E ; for the sake of simplicity we now shall say that each mol. water in liquid L' has a potential energy E with respect to the water in liquid L .

We now may say that two factors are at work in liquid L' , of which one attracting the water and the other expelling the water.

One factor is the O.W.A. $= \xi'$, determining the attraction of the water or keeping it in L' . As this O.W.A. depends only upon the internal state of the liquid (composition and pressure) we shall call this the "internal" O.W.A.

The second factor is the potential energy E the water has in liquid L' ; this E tries to expel the water out of liquid L' and, therefore, works in a direction opposite to that of the internal O.W.A. $= \xi'$ of this liquid.

Generally speaking we shall now call the internal O.W.A. of a liquid (gas etc.) diminished by its potential energy, the "active" O.W.A. So we may put in general:

active O.W.A. $=$ internal, O.W.A. $-$ pot. energy.

When a liquid (gas etc.) has no potential energy, then we have, therefore:

active O.W.A. $=$ internal O.W.A.

so that both these O.W.A.'s are equal now.

In future we shall, for the sake of simplicity, always speak of the "active" O.W.A., also when the active and the internal O.W.A. are equal.

For liquid L of system (2) obtains therefore:

$$\text{active O.W.A.} = \xi$$

and for liquid L' of this system:

$$\text{active O.W.A.} = \xi' - E.$$

Above we have seen that the quantity of water δa , diffusing towards the left in system (2), must satisfy (10); we now distinguish three cases.

a. $\xi > \xi' - E$. As the coefficient of δa in (10) is positive now, δa must be positive also; this means that the water in system (2) now diffuses towards the left. If we consider the meanings of ξ and $\xi' - E$ then it appears that the water diffuses towards that side of the membrane, where the active O.W.A. is greatest.

b. $\xi < \xi' - E$. As the coefficient of δa is negative now, δa must be negative also; consequently the water now diffuses towards the left, therefore, again towards that side of the membrane where the active O.W.A. is greatest.

c. $\xi = \xi' - E$. As the coefficient of δa is now zero, we must introduce also higher powers of δa in (10); we now find:

$$-Q(\delta a)^2 \geq 0. \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (12)$$

in which Q is positive. As $(\delta a)^2$ is positive for every positive or negative value of δa and the first part of (12) consequently negative, (12) can only be satisfied by $\delta a = 0$; consequently no water passes through the membrane.

Summarising these results, it follows:

C. the water diffuses towards that side of the active membrane $M(W)$, where the active O.W.A. is greatest; when the two liquids have the same active O.W.A., no water will diffuse.

In the special case that no forces act in the membrane, so that the active O.W.A. of the two liquids is the same as the internal O.W.A., rule C passes into A.

As the preceding considerations obtain not only for water, but also for an arbitrary substance S , and as we may look upon an inactive membrane as a special case of an active membrane, we may consequently say also:

D. a substance S diffuses towards that side of a membrane $M(S)$ [active or inactive] where the active O.S.A. is greatest;

when the two liquids (gas etc.) have the same O.S.A., then the substance S does not diffuse;

so the nature of this membrane [active or inactive] does not influence the direction, in which the substance S will diffuse.

Previously in discussing the osmosis we have distinguished a "congruent" and an "incongruent" direction; we have stated namely:

E. a substance S diffuses congruently when it goes from smaller towards greater internal O.S.A. The opposite direction (consequently from greater towards smaller O.S.A.) is called incongruent.

In the special case that we have an inactive membrane, permeable for one substance only, follows:

F. a substance S diffuses through all inactive membranes $M(S)$ in the same, viz. in congruent direction.

It is clear that this rule obtains no more, however, when this membrane is active; from our previous considerations then follows:

G. a substance S can diffuse through an active membrane $M(S)$ congruently as well as incongruently. In this case the direction of the diffusion namely is not defined by the "internal" but by the "active" O.S.A. of the two liquids (gases etc.).

In order to apply the preceding considerations to some simple cases, we suppose in the osmotic system:

$$\begin{array}{c} L \\ \xi \end{array} \left| \begin{array}{c} M(W) \end{array} \right| \begin{array}{c} L' \\ \xi' \end{array} \quad \xi < \xi' \longrightarrow W \quad . \quad . \quad . \quad (13)$$

an inactive membrane $M(W)$. If, for the sake of concentration, we take $\xi < \xi'$, then the water will diffuse towards the right; so the arrow indicates also the congruent direction of the water in system (13).

We now suppose the inactive membrane (13) replaced by an active one, which performs a work E on each mol. water diffusing towards the left; we represent this system by

$$\left. \begin{array}{c} \longleftarrow E \\ L \left| \begin{array}{c} M(W) \end{array} \right| L' \\ \xi \qquad \qquad \qquad \xi' - E \end{array} \right\} \begin{array}{l} \xi < \xi' - E \longrightarrow W \\ \xi = \xi' - E \longrightarrow 0 W \\ \xi > \xi' - E \longleftarrow 0 W \end{array} \quad . \quad (14)$$

in which ξ and $\xi' - E$ are the active O.W.A.'s.

Now it is clear that it depends upon the value of E whether ξ will be smaller than, equal to, or larger than $\xi' - E$; consequently we may distinguish the three cases indicated in (14).

So a certain value of E viz. $E = \xi' - \xi$ exists, in which case no water diffuses; with a smaller value of E is $\xi < \xi' - E$ and consequently the water goes towards the right; with a greater value of E the water goes towards the left. In order to indicate that this second direction is incongruent, the sign 0 has been placed in (14) beside this second arrow.

In the special case that $E = \xi' - \xi$, no water diffuses through the active membrane, whereas it does diffuse through the inactive one; we may also call this non-diffusion of water incongruent now.

If we replace the active membrane of (14) by an other membrane, in which the force acts towards the right, then we represent this by:

$$\begin{array}{c} \longrightarrow E \\ L \mid M(W) \mid L' \\ \xi - E \mid \quad \quad \quad \mid \xi' \end{array} \quad \xi - E < \xi' \longrightarrow W \quad \left. \vphantom{\begin{array}{c} \longrightarrow E \\ L \mid M(W) \mid L' \\ \xi - E \mid \quad \quad \quad \mid \xi' \end{array}} \right\} \quad (15)$$

in which the active O.W.A. now is $\xi - E$ and ξ' . As has been assumed $\xi < \xi'$, $\xi - E$ is always smaller than ξ' ; consequently in system (15) the water will always diffuse towards the right and, therefore, congruently.

If we compare the systems (13), (14) and (15) and if we take into consideration that the force in system (14) acts in incongruent direction and in system (15) in congruent direction, we see that only a force, acting in incongruent direction can alter the direction of diffusion of a substance.

We can imagine, as may be the case perhaps with living membranes, that E is dependent on all sorts of factors, acting on the membrane, e.g. temperature (light, hysteresis etc.). If we consider system (14) then it becomes clear that we can say:

H. when in a membrane the force acts in incongruent direction and the E changes with the temperature, then the direction, in which a substance diffuses, may be dependent on the temperature.

Of course the same may obtain also for a change in the other factors, e.g. light, age etc.

We now take the special case that the liquid L of system (13) consists of pure water; we then have the osmotic system:

$$\begin{array}{c} \text{water} \mid M(W) \mid L' \\ \xi \mid \quad \quad \quad \mid \xi' \end{array} \quad \xi < \xi' \longrightarrow W \quad \left. \vphantom{\begin{array}{c} \text{water} \mid M(W) \mid L' \\ \xi \mid \quad \quad \quad \mid \xi' \end{array}} \right\} \quad (16)$$

in which $\xi < \xi'$, so that the water must diffuse towards the right. Instead of (14) we then get the system:

$$\begin{array}{c} \longleftarrow E \\ \text{water} \mid M(W) \mid L' \\ \xi \mid \quad \quad \quad \mid \xi' - E \end{array} \quad \left. \begin{array}{l} \xi < \xi' - E \longrightarrow W \\ \xi = \xi' - E \longrightarrow 0 W \\ \xi > \xi' - E \longleftarrow 0 W \end{array} \right\} \quad (17)$$

It now depends upon the value of E , whether the water will diffuse towards the solution or from the solution towards the pure water. If we represent the value of E in case no water diffuses, by E_0 , then E_0 is consequently determined by:

$$E_0 = \xi' - \xi \quad (18)$$

For L' we now take a binary liquid with the composition:

$$x \text{ mol } X + (1 - x) \text{ mol } W \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (19)$$

We then may write for (18):

$$E_0 = \int_0^x \frac{\partial \xi'}{\partial x} dx \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (20)$$

If we represent the thermodynamical potential of 1 quantity of L by Z , we have:

$$\xi' = -Z + x \frac{\partial Z}{\partial x} \quad \text{and} \quad \frac{\partial \xi'}{\partial x} = x \frac{\partial^2 Z}{\partial x^2} = xr \quad . \quad . \quad . \quad (21)$$

Instead of (20) then follows:

$$E_0 = \int_0^x xr dx \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (22)$$

so that E_0 has been determined. From this follows for small values of x :

$$E_0 = RTx \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (23)$$

so that for small values of x , E_0 is proportionate to the concentration of the non-diffusing substance.

When e.g. in system (17) L' is a diluted solution, then for $E < RTx$ the water will diffuse towards the solution and for $E > RTx$ from the solution towards the pure water.

Of course it is also possible to connect E_0 with the osmotic pressure and the O.W.V.P. (osmotic-water-vapour-pressure) of liquid L' ; I shall refer to this later on.

Leiden, Lab. of Inorg. Chemistry.

(To be continued.)

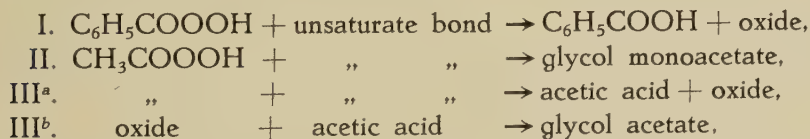
Chemistry. — *On the oxidation of organic iodine compounds by means of organic per-acids.* By J. BÖESEKEN and G. C. C. C. SCHNEIDER.

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

One of us (B.) with a number of collaborators¹⁾ has shown that in many cases oxidation with per-acetic acid presented another image than with per-benzoic acid.

Where the latter often give rise to the formation of oxides (I), oxidation with per-acetic acid appeared to result in an addition of this acid to the double bond with formation of glycol-mono-acetate (II).

That we have not to do here exclusively with an accidental difference caused by another solvent, as the Russian investigators ARBUSOW and MICHAILOW²⁾ suppose, who take in *both* cases the oxide as primary product, which then passes into a glycol-acetate (III a and b) on oxidation in acetic acid solution,



appears from the oxidation of stilbene, which with per-benzoic acid passes into the oxide, which is not attacked by acetic acid, while it forms hydro benzoine acetate with per-acetic acid.

In the oxidation of aromatic iodine compounds we have also found a distinctly different behaviour of the two organic per-acids.

The aromatic iodoso- and iodo-compounds have been discovered by WILLGEROTH³⁾, who obtained the former by the decomposition of iodide-chlorides with water, or preferably with caustic alkalies. Afterwards these and the iodo-compounds have also been obtained by direct oxidation of iodine compounds with nitric acids and other oxidizers, like NaOBr etc. BAMBERGER and HILL have used CARO's acid, i.e. per-sulphuric acid, for this purpose; hence it was to be expected that the organic per-acids would appear to be efficient oxidizers.

We treated a number of compounds from different classes: $\text{C}_6\text{H}_5\text{I}$, $\text{o-C}_6\text{H}_4\text{I}_2$, the iodine toluenes, the iodine benzoic acids, the iodine sulphonc acids, iodine nitro-benzenes, and di-iodine ethylene, resp.

¹⁾ Recueil d. Trav. chim. d. Pays-Bas **47**, 683, 694, 839 (1928), **48** 363 (1929).

²⁾ Journ. f. pr. Ch. [2] **127**, 92.

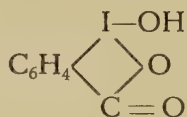
³⁾ B. **25**, 3494 (1892).

with per-acetic acid and per-benzoic acid, and with a single exception we could always obtain the iodoso- and iodo-compounds.

In connection with what was said in the introduction, these two oxidizers appeared to behave *differently*: with per-acetic acid *always* the *iodoso compound* was obtained, and mostly in the form of its acetate, hence an addition of the per-acetic acid; with per-benzoic acid the iodo compound was always directly obtained with the ordinary iodides.

With *ortho* iodine-benzoic acid and paraiodine-sulphonic acid the oxidation (also in case of after-treatment with per-benzoic acid) appeared to stop with the iodoso compound; probably this is in connection with the dipole character of these compounds. If the ordinary iodoso acetates, which had been obtained with per-acetic acid, were subjected to an after-treatment with per-benzoic acid, also these passed into the iodo compounds.¹⁾

The structure of orthoiodoso benzoic acid is often supposed to be ring-shaped, because it crystallizes well in contrast with the other iodoso



compounds. In view of the analogous properties of para-iodoso sulphonic acid this structure seems improbable to me, and they are to be considered as internal salts without ring structure.

IO H^+
 C_6H_4 SO_3^- , hence to be put on a line with the different diazonium-sulphonic acids and carbonic acids, which are also better formulated as dipoles than as ring-shaped compounds.

It further appeared possible in a few cases to prepare iodoso- or iodo-compounds which so far had not been obtained in any other way, e.g. ortho-di-iodo-benzene, the before-mentioned para-iodoso-sulphonic acid, and di-iodo-ethylene. The oxidations take place at the temperature of about 20° C., and are mostly completed after 24 hours; the reaction products: iodoso acetates, resp. iodoso acid, and iodo-compounds are obtained mostly in pure state, and in a very good yield.

1st Example:

10 gr. $\text{C}_6\text{H}_5\text{I}$ dissolved in 40 cc. 9.5 % per-acetic acid, after 24 hours, gave an abundant crystallisation of *iodoso-benzene-diacetate*. Melt. $p=156^\circ$, active oxygene = 4.85 % calculated 4.97 %.

Total yield 15 gr.

¹⁾ It appeared, however, that in a single case a continued shaking with per-acetic acid caused the oxidation to result in the iodo compound, so that the difference in behaviour of the two oxidizers must be found in the dipole character of the iodoso compound.

2.5 gr. $\text{C}_6\text{H}_5\text{I}$ dissolved in 80 gr. 4% chloroformic solution of perbenzoic acid. After 18 hours a substance crystallizing in white leaflets, has been formed.

Active oxygene 13.45%, calculated 13.6%.

3 gr. iodosobenzene acetate dissolved in 40 gr. 5.6% chloroformic solution of perbenzoic acid; after some time 1.8 gr. of iodobenzene (calculated 2.2 gr.) was deposited.

2nd Example. Para iodoso sulphonic acid.

5 gr. $\text{p-IC}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$ were treated with 10 cc. 13% per-acetic acid. Within a few minutes a white precipitate begins to form; after a few hours after sucking off, the substance was washed with anhydrous acetic acid and dried.

This substance could be recrystallized from boiling water.

Active oxygen. Found 5.2%, calc. 5.3%. In dry condition the point of decomposition is sharp at $156^\circ.4$ (weak detonation).

5 gr. iodine benzene sulphonic acid dissolved in 90 gr. chloroformic solution containing 6.7% per-benzoic acid gave, after some minutes, a feebly yellow precipitate, which was sucked off, washed, and dried in vacuo; after 3 hours' drying this had 3.6% active oxygen, after 18 hours only 3.9%. At first it was supposed to contain benzoic acid, no trace was found by steam-distillation.

After recrystallisation from H_2O the substance becomes colourless, and the content of active oxygen was 5.2, the point of explosion 156.6 .

This once recrystallized product did not absorb any chloroform; it is, therefore, probable that the pale-yellow amorphous oxidation product formed at first, has absorbed some chloroform (resp. a little iodine benzene sulphonic acid), in consequence of which the active oxygen was found too low.

The complete investigation will be published elsewhere.

*Laboratory of Organic Chemistry of the
Technical University.*

Delft, October 1930.

Mathematics. — *Eine Verallgemeinerung des Satzes von DESARGUES.*

By A. J. DROST S.J. (Communicated by Prof. R. WEITZENBÖCK.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

1. Wenn zwei in einer Ebene gelegene Dreiecke die Eigenschaft haben, dass die Schnittpunkte homologer Seiten auf einer Geraden liegen, so weiss man, dass die Verbindungslinien homologer Eckpunkte durch einen Punkt gehen und umgekehrt. Liegen beide Dreiecke in verschiedenen Ebenen, so ergeben sich die gleichlautenden Sätze durch einfache stereometrische Betrachtungen.

Im folgenden zeigen wir, dass ein analoger Übergang, wie hier von R_3 auf R_2 , allgemein von einem im $(2n-1)$ -dimensionalen Raum formulierten Satz zu einer Verallgemeinerung des Satzes von DESARGUES für Räume beliebiger Dimensionen R_n führt.

2. Es seien n Simplizes S_{n+1}^i ($i = 1, 2, 3 \dots n$) gegeben, deren ein jedes einen R_n^i bestimmt. Gehen diese n Räume R_n^i durch einen R_{n-1} , so dass sie einen $(2n-1)$ -dimensionalen R_{2n-1} bestimmen und haben die homologen Grenzsimplizes einen $(n-2)$ -dimensionalen R_{n-2} gemein, dann gehen die Verbindungsräume V_{n-1} der homologen Eckpunkte durch einen $(n-2)$ -dimensionalen Raum S_{n-2} .

Beweis:

Es seien die n Simplizes die den R_{2n-1} bestimmen gegeben durch die Punkte:

$A_1 B_1 C_1 \dots N_1 M_1; A_2 B_2 C_2 \dots N_2 M_2; \dots; A_n B_n C_n \dots N_n M_n.$

Die homologen Grenzsimplizes

$B_1 C_1 \dots N_1 M_1; B_2 C_2 \dots N_2 M_2; \dots; B_n C_n \dots N_n M_n$

haben nach Voraussetzung einen R_{n-2} gemein und bestimmen also einen $(2n-2)$ -dimensionalen Raum R_{2n-2}^A . Dieser R^A enthält nicht alle Punkte A_i .

Die homologen Grenzsimplizes $A_1 C_1 D_1 \dots N_1 M_1; A_n C_n D_n \dots N_n M_n$ bestimmen R_{2n-2}^B u.s.w.

R_{2n-2}^A und R_{2n-2}^B haben im R_{2n-1} wenigstens einen R_{2n-3} gemein; sie können keinen Schnittraum höherer Dimension haben, sonst lägen alle Eckpunkte der Simplizes in demselben R_{2n-2} und könnten den R_{2n-1} nicht bestimmen. Der Schnittraum R_{2n-3}^{AB} enthält die Punkte $C_i D_i \dots N_i M_i$; nicht die Punkte A_i bzw. B_i sonst wäre entweder R^B oder R^A ein $(2n-3)$ -dimensionaler Raum. R_{2n-3}^{AB} kann also weder ganz in R_{2n-2}^C noch in R_{2n-2}^D u.s.w. enthalten sein. Der Schnittraum R^{ABC} hat die

Dimension $(2n - 4)$ und kann keine höhere Dimensionszahl haben, was in ähnlicher Weise wie bei R^{AB} bewiesen wird. R_{2n-4}^{ABC} enthält alle Punkte $D_i \dots N_i M_i$; also ist R^{ABCD} verschieden von R^{ABC} und enthält alle Punkte $E_i \dots N_i M_i$ u.s.w.

Schliesslich haben $R_{2n-2}^A \dots R_{2n-2}^N$ einen $(n - 1)$ -dimensionalen $R_{n-1}^{AB \dots N}$ gemein der die Punkte M_i enthält. Dieser $R_{n-1}^{AB \dots N}$ kann also nicht ganz im R_{2n-2}^M enthalten sein, denn dieser R^M enthält diese Punkte M_i nicht alle. Die $R_{2n-2}^A \dots R_{2n-2}^M$ haben jedoch im R_{2n-1} einen $(n - 2)$ -dimensionalen Schnittraum. Da können sie nur diesen $S_{n-2}^{A \dots NM}$ gemeinschaftlich haben. Die $R_{n-1}^{A \dots N}$, die identisch sind mit den Verbindungsräumen V_{n-1} der homologen Eckpunkte, haben also alle den Schnittraum $S_{n-2}^{A \dots NM}$ gemein. W.z.b.w.

3. Übergang auf R_n .

Wir wählen für den R_n einen beliebigen der von den Simplizes bestimmten R_n^i . Der Übergang wird jetzt zu Stande gebracht, indem die übrigen R_n^k der Reihe nach durch Verschiebung eines Punktes auf einer Geraden in den einen R_n^i übergeführt werden. Die Inzidenzen bleiben dabei ungeändert. Es ergibt sich dann der Satz:

Wenn n in einem R_n gelegene Simplizes S_{n+1}^i die Eigenschaft haben, dass die homologen Grenzsimplizes durch je einen R_{n-2} von demselben R_{n-1} gehen, dann gehen die Verbindungsräume V_{n-1} von je n homologen Eckpunkten durch einen $(n - 2)$ -dimensionalen Raum S_{n-2} .

Der duale Satz lautet:

Liegen n Simplizes S_{n+1} perspektivisch in R_n (oder was dasselbe ist: tragen die Verbindungslinien von je n homologen Eckpunkten denselben Punkt) so tragen die Schnittpunkte von je n homologen Grenzsimplizes dieselbe Gerade.

Physics. — *Über den Ramaneffekt beim kritischen Punkt.* Von G. PLACZEK.
 (Mitteilung aus dem Physikalischen Institut der Universität Utrecht.)
 (Communicated by Prof. L. S. ORNSTEIN.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

§ 1. *Problemstellung.*

Der Ramaneffekt beim kritischen Punkt bietet von zwei Gesichtspunkten aus Interesse, da seine Untersuchung einerseits über die Kohärenzeigenschaften der modifizierten Streustrahlung Auskunft gibt, andererseits auch einen Einblick in die Art der Wechselwirkung der Moleküle im kritischen Gebiet ermöglicht. Die bisherigen Untersuchungen beschäftigen sich ausschliesslich mit der ersteren Seite des Problems; die hierbei auftretende Fragestellung sei, zur Vermeidung von Unklarheiten, im Folgenden nochmals formuliert.

Die Dispersionstheorie unterscheidet zwei Arten von Streuprozessen, je nachdem ob sie mit einer Änderung des Quantenzustands des streuenden Systems (z.B. Moleküls) verbunden sind oder nicht. Die bei diesen Prozessen emittierten Streustrahlungen unterscheiden sich grundlegend in Bezug auf ihre Kohärenzeigenschaften: Bei der Streuung ohne Änderung des Quantenzustandes ist das streuende Moment eindeutig bestimmt, die von verschiedenen Streuzentren ausgesandten Wellen sind daher interferenzfähig. Ändert sich hingegen der Quantenzustand durch den Streuprozess, so geht in den Ausdruck für das streuende Moment ein unbestimmter Phasenfaktor ein; für die Kohärenzeigenschaften des Streulichtes kommt es dann darauf an, ob diese Phasenfaktoren für verschiedene Streuzentren in Relation stehen. Ist dies nicht der Fall so ist die Streustrahlung verschiedener Zentren inkohärent. Beim gewöhnlichen Ramaneffekt entsprechen den in Rede stehenden Quantensprüngen Kernschwingungen; Interferenz kann daher nur auftreten, wenn Phasenbeziehungen zwischen den Kernschwingungen verschiedener Streuzentren bestehen. Das Auftreten von Interferenz lässt sich nun einfach feststellen, wenn man die von der Volumseinheit einer beliebigen Substanz gestreute Intensität betrachtet. Da, mit Ausnahme des idealen Gases, die Lagen der Moleküle gegenseitig korreliert sind wird die gestreute Intensität davon abhängen, ob die Streustrahlung interferenzfähig ist oder nicht. Im Fall der Kohärenz erhält man

$$I = N \cdot I_0 F \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (1)$$

wobei N die Anzahl Moleküle pro ccm^3 , I_0 die von einem Molekül gestreute Intensität und F einen Interferenzfaktor bedeutet, der dem Verhältnis

nung an den kritischen Mischungspunkt des Gemisches Methanol-Schwefelkohlenstoff visuell mit der Methode der komplementären Filter ein starkes Anwachsen der Intensität des Ramaneffektes feststellte¹⁾. In der Folge haben ROCARD und BOGROS²⁾ sowie MARTIN³⁾ Versuche am Gemisch Phenol-Wasser angestellt, es gelang ihnen jedoch überhaupt nicht, den Ramaneffekt im kritischen Gebiet zu finden. Über Beobachtungen am Gemisch Isobuttersäure-Wasser berichten ZIEMECKI und NARKIEWICZ-JODKO⁴⁾. Auf Grund von Schwärzungsschätzungen der fotografierten Ramanlinien schliessen diese Autoren, dass die Intensität der Linien sich beim kritischen Punkt nicht wesentlich verändert. Da jedoch, wie im folgenden deutlich werden wird, gerade beim vorliegenden Problem solche Schätzungen je nach den Versuchsbedingungen zu vollkommen verschiedenen Resultaten führen, sind zur Entscheidung der gestellten Frage und zur Aufklärung der Ramanschen Ergebnisse quantitative Intensitätsmessungen notwendig. Über solche soll im Folgenden berichtet werden.

§ 2. Versuchsanordnung.

Zur Untersuchung gelangten die Gemische Methanol-Schwefelkohlenstoff ($T_k = 40.5^\circ$, $c_k = 80.5\%$ CS₂) und Methanol-Hexan ($T_k = 42.8^\circ$, $c_k = 69.6\%$ Hexan). Die Versuche wurden mit der Woodschen Einstrahlungsmethode⁵⁾ durchgeführt, wobei die notwendige genaue Temperaturkonstanz der Streuflüssigkeit in der folgenden Weise erzielt wurde. Der Mantel des Beobachtungsgefässes stand mit einem Thermostaten von grosser Wärmekapazität in Verbindung, der mit Wasser gefüllt war. Dieses wurde mit Hilfe einer schnell rotierenden Zentrifugalpumpe durch den Gefässmantel gepumpt. Der Thermostat wurde mit Hilfe eines Toluolthermoregulators auf konstanter Temperatur gehalten, wobei — infolge geeigneter Wahl der Ein- und Ausströmungsrichtung — das Rühren automatisch durch die Pumpe bewerkstelligt wurde, u.zw. in weit wirksamerer Weise als durch die gebräuchlichen mechanischen Rührvorrichtungen.

Ausserdem erwies es sich als notwendig, das Ramanrohr selbst abzuändern, da in den gewöhnlich benutzten Gefässen ein kleines Temperaturgefälle in der Längsrichtung besteht, was zur Folge hat, dass an bestimmten Punkten des Gefässes der kritische Punkt früher eintritt als an anderen, wodurch die Beobachtung unmöglich gemacht wird. Bei dem in Fig. 1 dargestellten Gefäss ist dieser Übelstand dadurch behoben, dass die Streuflüssigkeit sich hier praktisch vollständig innerhalb des durchströmten Mantelraumes befindet. Zu diesem Zweck liegt das Fenster *F* hier nicht, wie gewöhnlich, fest in der Gummidichtung *K*, sondern frei im Innern des

¹⁾ Bei Gemischen wird *F* durch die Temperaturabhängigkeit des Dampfdrucks bestimmt.

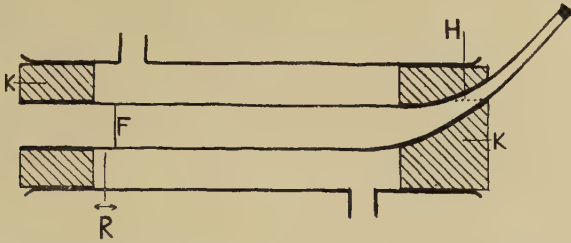
²⁾ C.R., 186. 1712. 1928.

³⁾ Nature, 122. 506. 1928.

⁴⁾ Naturwissenschaften, 17. 876. 1929, Phil. Mag. 9. 299. 1930.

⁵⁾ W. R. WOOD, Phil. Mag. 6. 729. 1928.

Gefässmantels (das infolgedessen austretende direkte Licht wird durch Schwärzung der inneren Wand des Rohrfortsatzes R und durch Ein-



führung einer Blende in denselben abgeschirmt), während der Austritt des Innenrohres aus dem Mantel nicht gerade, sondern durch eine excentrische Bohrung in der rückwärtigen Dichtung erfolgt. Das Gefäss wird nur bis zur Höhe H , bei der im Fenster gerade keine Luftblasen mehr sichtbar sind, gefüllt, störende Reflexe wegen dieser unvollständigen Füllung traten nicht auf.

Als Spektrograph diente ein kleiner Fuess-Glasspektrograph; für die definitiven Aufnahmen gelangte ein grosser Quarzspektrograph von HILGER (Typ E_1) zur Verwendung. Das Versuchsgefäss war um eine horizontale feste Achse, senkrecht zur Gefässachse, so drehbar montiert, dass der Inhalt ohne Aenderung der optischen Justierung geschüttelt werden konnte, was zur Vermeidung von Verzögerungserscheinungen nötig war.

Bei den Versuchen, die stets mit zugeschmolzenen Gefässen durchgeführt wurden, wurde zunächst eine Aufnahme etwa 20° oberhalb der kritischen Mischungstemperatur gemacht, hierauf langsam bis unmittelbar an den kritischen Punkt abgekühlt, worauf unter genau gleichen Bedingungen eine zweite Aufnahme bei gleicher Belichtungszeit auf derselben Platte erfolgte. Insbesondere wurde hierbei auf genaue Konstanz des Hg-Bogens geachtet. Die Belichtungszeit betrug mit dem kleinen Glasspektrographen 15—30 Minuten, mit dem Quarzspektrographen bis zu 6 Stunden. Bei der Untersuchung des Gemisches $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CS}_2$ mussten, um photochemische Zersetzung des Schwefelkohlenstoffs zu vermeiden, die Linien auf der kurzwelligen Seite von Hg 4358 aus der einfallenden Strahlung ausgefiltert werden. Es wurde in diesem Fall daher als Badflüssigkeit nicht Wasser, sondern Kaliumchromat gebraucht.

§ 3. Ergebnisse.

Im Streuspektrum beider Gemische zeigten sich die unverschobenen Ramanlinien beider Komponenten. Ausserdem trat beim kritischen Punkt zwischen Hg 4347 und 4916 ein starkes kontinuierliches Spektrum auf. Zum Teil ist dieses der Rayleighschen Streuung des im Hg-bogen vorhandenen kontinuierlichen Grundes zuzuschreiben. Dieser tritt, wegen seiner geringen Intensität, im Streuspektrum im Allgemeinen nicht auf;

wegen des starken Anwachsens der Rayleighschen Streuung im kritischen Gebiet wird er hier jedoch bereits bemerkbar, ebenso wie einige ganz schwache Hg-Linien. Der grosse Intensitätsunterschied des Kontinuums auf den Aufnahmen bei hoher und in der Nähe der kritischen Temperatur bewirkt, dass die Schwärzung der Ramanlinien der beiden Aufnahmen meist in ganz verschiedene Gebiete der Schwärzungskurve fällt. Dies hat zur Folge, dass bei kurzer Belichtungszeit die Linien in der Aufnahme mit schwachem kontinuierlichem Grund überhaupt nicht sichtbar sind, während sie auf der Aufnahme mit starkem Kontinuum stark erscheinen. Genau das Umgekehrte tritt jedoch bei langer Belichtungszeit ein: hier werden in der zweiten Aufnahme die Linien bereits vom Kontinuum überdeckt, während sie in der ersten stark sichtbar sind. Dass unter solchen Umständen jeder Versuch einer Intensitätsschätzung illusorisch ist, braucht wohl nicht näher ausgeführt zu werden.

Zur Intensitätsmessung wurde nur das Gemisch Methanol-Hexan benutzt, da mit demselben ohne Filter gearbeitet werden konnte und daher die Unsicherheit, die durch die Temperaturabhängigkeit der Absorption der Filterflüssigkeit erzeugt wird, wegfällt. Zur Auswertung der photometrisch bestimmten Schwärzungen in Intensitäten dienten Schwärzungsmarken einer kontinuierlichen Lichtquelle, die mit der Methode der Spaltbreitevariation aufgenommen waren. Für das Intensitätsverhältnis des durch Hg 4047 angeregten Ramandoublets 2832, 2938 Wz/cm, das von KOHLRAUSCH und DADIEU der Gruppe C-CH₃ zugeschrieben wird¹⁾ und sowohl im Methylalkohol als auch im Hexan auftritt²⁾, bei 65.2° und 44.4° (1.6° oberhalb des kritischen Punktes) ergab sich auf diesem Wege bei Berücksichtigung des kontinuierlichen Grundes:

$$\frac{I_{44.4}}{I_{65.2}} = 0.9.$$

Die Genauigkeit dieses Resultats dürfte etwa 20 % betragen. Sie weiter zu steigern hat bei der verwendeten Anordnung nicht viel Sinn, da die zu messende Grösse hier nicht viel besser definiert sein dürfte als innerhalb dieses Spielraums. Wegen des im kritischen Gebiet grossen Extinktionskoeffizienten erleidet nämlich das Ramanlicht auf seinem Weg durch die opaleszierende Flüssigkeit Rayleighsche Streuungen, was, da das Ramanlicht partiell polarisiert ist, eine Veränderung seiner Winkelverteilung und somit auch der in den Spektrographen gelangenden Intensität zur Folge hat. Damit der Einfluss dieses Umstandes nicht zu gross werde, wurde in einer Entfernung vom kritischen Punkte gearbeitet, bei der zwar bereits sehr starke Opaleszenz, aber noch keine beträchtliche Mehrfachstreuung vorhanden ist, was man an der Farbe des Gemisches feststellen kann.

¹⁾ Ber. D. Chem. Ges. **63**, 251. 1930. Da die Gruppe C-CH₃ im Methylalkohol nicht vorhanden ist, wird diese Zuordnung wohl zu modifizieren sein; jedenfalls ist aber das Auftreten der Doublets mit der Anwesenheit der CH₃-Gruppe verknüpft.

²⁾ DADIEU u. KOHLRAUSCH, Wiener Ber. (IIa) **139**, 77, 1930. (Methylalkohol). OKOBU u. HAMADA, Sc. Reports Tōhoku Univ. **18**, 601, 1929. (Hexan).

§ 4. Schlussfolgerungen.

Das vorliegende Ergebnis zeigt, dass, während die Intensität der Rayleighschen Streuung um ein Vielfaches wächst, die Intensität der Ramanlinien konstant bleibt. Die Kernschwingungen innerhalb verschiedener Moleküle sind daher auch im kritischen Gebiet als vollkommen unkorreliert anzusehen. Es fragt sich nun, wie auf Grund dieses Ergebnisses die Beobachtungen von RAMAN zu verstehen sind. Hierzu muss beachtet werden, dass die letzteren, mit der Methode der komplementären Filter angestellt, sich auf die Intensität der gesamten verschobenen Streustrahlung, die sich aus Ramanlinien und kontinuierlichem Ramanspektrum zusammensetzt, beziehen, während die vorliegenden Messungen allein die Ramanlinien betreffen. (Das kontinuierliche Spektrum konnte, wegen der erwähnten Störung durch den kontinuierlichen Grund des Hg-bogens, nicht gemessen werden.) Aus dem Vergleich dieser beiden Ergebnisse ist somit zu schliessen, dass, während die Intensität der Ramanlinien im kritischen Gebiet unverändert bleibt, die Intensität des *kontinuierlichen* Ramanspektrums daselbst stark anwächst.

Zum Verständnis dieser Tatsache ist es nötig, den Ursprung des kontinuierlichen Ramaneffektes (k. R.) etwas genauer zu untersuchen. Während das Auftreten der Ramanlinien mit Sicherheit den Kernschwingungen innerhalb des Moleküls zugeschrieben werden kann und in vielen Fällen bereits eine genaue Zuordnung möglich ist, besteht über die Natur des Kontinuums noch wenig Klarheit. Immerhin dürfte feststehen, dass dasselbe nicht auf Schwingungen innerhalb des Moleküls, sondern auf die Wechselwirkung der Moleküle untereinander zurückgeht. Wir möchten diese Auffassung dahin präzisieren, dass der k. R. den Schwingungen von Molekülkomplexen zuzuordnen ist. In Flüssigkeiten solche Schwingungen anzunehmen, scheint zunächst befremdend. Zwar werden diese auch durch das Verhalten der spezifischen Wärmen wahrscheinlich gemacht, indes wendet man ein, dass im flüssigen Zustand die Wechselwirkungsenergie der Moleküle viel zu gering ist, als dass man deren Bewegung als Schwingungen um eine Ruhelage beschreiben dürfte. Hierin liegt gerade die Hauptschwierigkeit der Molekulartheorie des flüssigen Zustandes. Es ist aber zu bedenken, dass wegen der thermischen Schwankungen es stets Stellen in der Flüssigkeit gibt, an denen die Wechselwirkungsenergie so gross wird, dass schwingungsfähige Gebilde entstehen. Inwieweit diese sich bemerkbar machen können wird von ihrer Lebensdauer abhängen. Diese kann man abschätzen, wenn man überlegt, dass das Entstehen und Auseinanderfallen dieser Komplexe nichts anderes ist als die gewöhnlichen Dichteschwankungen, die bekanntlich im Wesentlichen mit akustischer Frequenz verlaufen, während den betrachteten Schwingungen Ultrarotfrequenz zukommt. Genau so wie in Kristallen gelangt man also auch hier zur Unterscheidung zwischen akustischem und optischem Teil des elastischen Spektrums und sieht, dass die Lebensdauer der Komplexe gross ist

gegen die Schwingungsperiode, so dass es sinnvoll ist, denselben eine reelle Existenz zuzuschreiben. Inwieweit man hierdurch zum Verständnis einer Reihe von makroskopischen Eigenschaften der Flüssigkeiten gelangen kann, soll hier nicht näher ausgeführt werden. Es sei bloss auf die bekannten Ergebnisse der Streuversuche mit Röntgenstrahlen hingewiesen, die eine Reihe von Forschern zur Annahme einer kristallartigen Struktur der Flüssigkeiten geführt haben. Aus der vorliegenden Auffassung lässt sich diese Annahme rechtfertigen und begründen. Es ist auch klar, dass die Untersuchung des k. R. geeignet ist, die Ergebnisse der Röntgenversuche nach einer wichtigen Seite hin zu ergänzen. Während nämlich auf die letzteren nur die mittlere Anordnung der Moleküle von Einfluss ist, lässt sich aus der Frequenzverteilung des k. R. Aufschluss über die Änderung dieser Anordnung, also die dynamische Seite des Problems gewinnen. Für das Verständnis des Verhaltens des k. R. im kritischen Gebiet ist jedoch eine summarischere Betrachtungsweise ausreichend, wobei nicht nach der Frequenz, sondern nur nach der Gesamt-Intensität gefragt wird. Sehen wir die Komplexe als unabhängige Streuzentren an, so wird die gesamte Intensität des k. R.

$$I = \sum_j z_j I_j$$

wobei z_j die mittlere Anzahl der Komplexe bestimmter Grösse in der Volumseinheit, I_j die von einem Komplex gestreute Intensität bedeutet. Während die I_j durch die Struktur der Komplexe bestimmt werden, sind die z_j aus der aus der Röntgenstreuung folgenden g -Funktion bestimmbar, die die Wahrscheinlichkeit dafür angibt, in bestimmtem Abstand von einem hervorgehobenen Molekül ein anderes Molekül zu finden ¹⁾. Der Zusammenhang ist im allgemeinen etwas verwickelt, ein recht einfacher Überblick lässt sich jedoch in der folgenden Weise gewinnen.

Wir identifizieren den Index j mit der Zahl der einem Komplex bestimmter Grösse zugehörigen Moleküle und definieren eine Grösse c durch

$$c = \frac{\sum_2^{\infty} I_j z_j}{\sum_2^{\infty} j z_j}$$

c ist der Mittelwert der Streuintensität pro komplexformendes Molekül. Ist z_1 die Zahl der Moleküle, die keinem Komplex zugehören, so wird (2)

$$I = c \sum_2^{\infty} j z_j = c (N - z_1) \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (3)$$

(N Gesamtzahl der Moleküle).

Andererseits ist

$$z_1 = N \{ 1 - 2 \pi g(r) \triangle r \} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (4)$$

¹⁾ ZERNIKE und PRINS, Zs. f. Phys. 41. 184. 1927.

wobei der Klammerausdruck die Wahrscheinlichkeit dafür angibt, im Abstand r , der ungefähr gleich dem Moleküldurchmesser zu wählen ist ¹⁾ kein Molekül anzutreffen. Die Intensität wird also

$$I = 2 \pi N c g(r) \Delta r$$

direkt proportional der Höhe des ersten Maximums der g -Funktion. Diese Grösse kann man z.B. direkt den Röntgenaufnahmen entnehmen. Solche liegen indes bis nun im kritischen Gebiet nicht vor. Es lässt sich aber leicht das Folgende überlegen. Da im kritischen Gebiet die Komplexbildung stark zunimmt, andererseits für das Zustandekommen eines jeden Komplexes erforderlich ist, dass das in (4) auftretende Δr besetzt ist, muss das betrachtete Maximum und mit ihm auch die Intensität des k. R. in der Nähe des kritischen Punktes stark anwachsen ²⁾.

Es sei nun noch auf die Beziehung der hier betrachteten Komplexe zu den in der ORNSTEIN-ZERNIKE'schen Theorie der kritischen Opaleszenz ³⁾ auftretenden Schwärmen hingewiesen. Da die Grösse der letzteren durch die Reichweite der Korrelation der Dichteschwankungen, die der ersteren hingegen durch die Ausdehnung der Gebiete fester Bindung bestimmt wird, sind diese Grössen im allgemeinen verschieden und werden nur dann identisch, wenn die Reichweite der Molekularkräfte (nach ORNSTEIN-ZERNIKE die Reichweite der direkten Korrelation) klein ist gegenüber Moleküldimensionen. Gerade im untersuchten Fall, in dem es sich, wie sich gleich zeigen wird, im wesentlichen um Dipolkräfte handelt, ist diese Bedingung nicht erfüllt ⁴⁾.

Über die genaue Struktur und Grösse der betrachteten Komplexe kann erst die weitere experimentelle Untersuchung des k. R. Aufklärung bringen. Im Falle der untersuchten Gemische lässt sich aber bereits das Folgende sagen: Beide Gemische gehören jenem Typ an, dessen Mischungslücke durch die Assoziation zwischen dipollosen Molekülen (CS_2 , bzw. Hexan) und Dipolmolekülen hervorgerufen wird, wobei die (in geringerer Zahl vorhandenen) Dipole als Zentren der Komplexe zu betrachten sein dürften. Da die Intensität des Ramaneffektes allgemein durch die Veränderung der Polarisierbarkeit mit der Kernbewegung bestimmt ist, dürfte der Hauptanteil des k. R. jenen Bewegungsarten zuzuschreiben sein, bei denen die Elektronenhüllen der dipollosen Moleküle im Dipolfelde deformiert werden. Diese Auffassung wird gestützt durch das Auftreten eines starken Ramankontinuums in Elektrolytlösungen ⁵⁾. Bei diesen handelt es sich dann

¹⁾ An dieser Stelle hat die g -Funktion ihr erstes Maximum. Die betrachtete Wahrscheinlichkeit kann übrigens auch durch ein Integral über die g -Funktion ausgedrückt werden.

²⁾ In der genaueren Theorie ist noch die Änderung von c zu berücksichtigen, die aber hier nicht ins Gewicht fällt.

³⁾ Amsterdam, Proceedings, **17**, 793, 1914, **18**, 1520. 1916.

⁴⁾ Die obigen Ueberlegungen bleiben auch für Gemische gültig, es ist dann bloss für jede Molekülsorte eine besondere g -Funktion zu benutzen.

⁵⁾ Vgl. z. B. die Aufnahmen von R. RAO, London Proc. **127**, 279, 1930.

um die deformierende Wirkung der Ionenladungen, die naturgemäss noch stärker ist als die der Dipole. Genaueres hierüber kann das Studium der Frequenzverteilung des k. R. lehren.

Herrn Professor ORNSTEIN habe ich für das Interesse an dieser Untersuchung und die zur Verfügung gestellten experimentellen Mittel zu danken. Herrn cand. phys. M. VAN DRIEL danke ich für Unterstützung bei den Aufnahmen.

Zusammenfassung.

Es wird über Intensitätsmessungen beim kritischen Mischungspunkt des Gemisches Methylalkohol-Hexan berichtet, aus denen der Schluss gezogen wird, dass daselbst die Intensität der *Ramanlinien* unverändert bleibt, während die des *kontinuierlichen* Ramanspektrums anwächst. Der kontinuierliche Ramaneffekt wird mit Schwingungen von Molekülkomplexen in Zusammenhang gebracht, woraus eine Erklärung für sein Verhalten im kritischen Gebiet folgt. Auf seine Bedeutung für die Untersuchung der Struktur der Flüssigkeiten wird hingewiesen.

Physics. — *On the liberation of electrons from a metal surface by positive ions*¹⁾. II. By F. M. PENNING. (Natuurkundig Laboratorium der N.V. Philips' Gloeilampenfabrieken, Eindhoven, Holland.) (Communicated by Prof. G. HOLST.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

§ 1. *Introduction.*

Some years ago, at the suggestion of Prof. HOLST, the author undertook a series of experiments on the liberation of electrons from a metal surface by positive neon ions. For γ ²⁾, the number of electrons, liberated on the average per pos. ion, the first experiments gave the following values:³⁾

Ion energie 1000 "Volt"	$\gamma = 0.3$	to 0.6
„ „ 100 „	$\gamma = 0.08$	to 0.14.

The fact, that the values of γ obtained in different series of measurements differ so much, was ascribed to the great influence of the condition of the metal surface on this effect. This point has now been examined more carefully and the results are published in § 3.

The main object of our first experiments was to establish, whether neon ions with zero velocity could liberate electrons. The apparatus used did not permit measurements in which the velocity of the ions was smaller than 50 V. If however for a given run the values of γ were plotted as a function of the ion energy, the points were nearly on a straight line. It did not seem improbable that this line could be extrapolated to zero energy; doing this the value of γ for neon-ions with zero velocity: γ_0 was found to be 0.05 to 0.10. With another tube smaller velocities of the ions could be obtained, and it was found, that for ions with an energy of 7 V at most, the value of γ was still at least 0.05⁴⁾. These experiments made it probable that also for ions with zero velocity the value of γ would be of the same magnitude. In all former measurements, however, there existed the possibility, that also neutral particles (light quanta, metastable atoms, high velocity neutral atoms⁵⁾) might liberate electrons. In the measurements of publ. II the magnitude of this electron current could be determined separately; in the determination of γ this current was subtracted from the total electron

1) Part of the experiments described hereafter was communicated at the 22nd Nat.- en Geneesk. Congres, April 1929 (Handelingen, page 108).

2) In former publications this quantity has been called α ; in the future we prefer to use γ following the notation introduced by TOWNSEND (Electricity in gases, 1915, p. 331). α and β refer to the ionisation of gas atoms, resp. by electrons and pos. ions.

3) F. M. PENNING, Proc. Amsterdam **31**, 14, 1928 (further referred to as publ. I).

4) F. M. PENNING, Physica **8**, 13, 1928 (referred to as publ. II).

5) Prof. SEELIGER called my attention to the possible influence of high velocity neutral atoms, originating from charge-transfer.

current. Nevertheless it remained desirable to carry out measurements, in which these neutral particles could no longer reach the collecting electrodes. These measurements have now been made and are communicated in § 2.

A disadvantage of the former measurements was, that the reflection of pos. ions could influence the results and that the path along which the pos. ions and electrons were moving, was in general not well-known. Therefore a special apparatus was built, in which the collecting electrodes were plane parallel plates, so that these paths could easily be calculated. The arrangement was such, that the pos. ions could not reach the electrode collecting the electrons and that metastable atoms etc. did not reach either of the collecting electrodes. The description of these measurements is given in § 4.

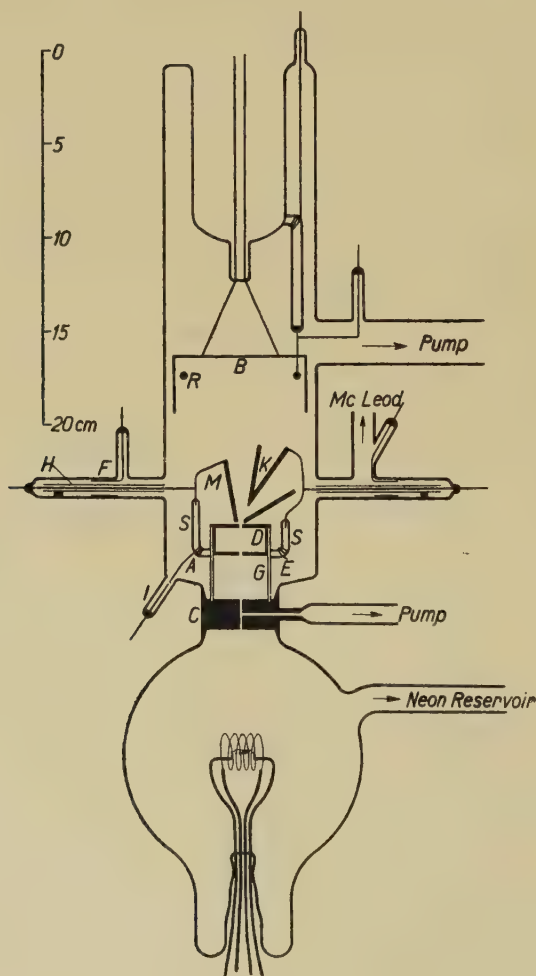


Fig. 1.

§ 2. *Measurements in which metastable atoms, high velocity neutral atoms and light quanta cannot strike the collecting electrodes.*

The tube, used for these measurements, is shown in Fig. 1. Here the same

method was applied as was used in publ. I and II; the ions are formed in a space of higher pressure (lower part of the tube), through a narrow canal in a chromium-iron electrode *C* they get into a space of low pressure. For more details see publ. I and II. The low pressure is obtained by two diffusion pumps; for neon this pressure was generally 0.0001 mm (mean free path of the pos. ions ca. 130 cm), with a pressure of 0.04 mm in the lower part of the tube. For the slowing down of the pos. ions the method of publ. II was used: between the canal in *C* (mostly — 100 V) and the copper box *D* a retarding field is applied; electrons which might be liberated from *C* and attracted by *D* are deviated in *D* by a transverse magnetic field. Two iron cones serve as collecting electrodes; *K* for the pos. ions and *M* for the electrons. The axis of these cones however do not lie in one line with the canal, they are placed in such a way, that the neutral particles, passing through the holes in *D* cannot reach them. These particles now hit the bottom of the tube *B*. In the latter a ring *R* is mounted in order to collect any electrons liberated from *B*. *D*, *K* and *M* are mounted together on a glass ring *G*; in the lower part of this ring several holes are made to further the removal of the gas. *K* and *M* are both supported by three strong nickel wires, sealed into glass rods *S*. The glass ring fits exactly in a slit of the chromium-iron electrode *C* and is fastened by three mantle wires sealed into the glass (I in fig. 1). To prevent leakage guard rings are mounted in the inner part of the tube e.g. for the electrode *M* at *A* and *F*. The lead of *M* is covered by a glass tube, which only comes into contact with the glass wall on the left of *F*; by going from *M* along the glass surface, one always comes across metal parts which are at the same potential as *M*.

The tube was evacuated in the usual way at a temperature of 400° C; after this the cone mantles were outgassed by means of high frequency currents. The gasfilling, unless mentioned otherwise, was neon.

The connections for measuring the currents to *K* and *M*, mainly the same as used before, are shown in fig. 2. Since these currents are very small, a galvanometer *G* of high sensitivity is used (6.10—11 A per mm ad 1 m, resistance 2500 O) and the insulation must meet high requirements. *K* and *M* are on potentials, differing up to 1000 V; in order to be able to measure both currents by means of the same galvanometer, a commutator *C* is used, which is shown in fig. 2. 13 iron cups, filled with mercury, are placed in a paraffine block. The left part brings about the connection with *K*, the right part that with *M* and the middle part that with *G*. As guard rings are used brass strips *B*, *D*, *E* and *F* let in through the whole thickness of the paraffine, and kept at the same potential as the mercury cups within; they are connected to other mercury cups as shown in the figure. The switch *W* (shown separately on the right) contains 3 copper bows, 2 of which (1 and 2) connect the galvanometer; the third (3) brings the points of support of the galvanometer and the guard rings *D*, *E* at the same potential as the galvanometer. Both parts of the switch are insulated from each other

by a piece of amber G . During the reversing of the switch the galvanometer is short-circuited by pressing down a spring H (upper part of amber). When measuring i_K the commutator forms the connection along the drawn

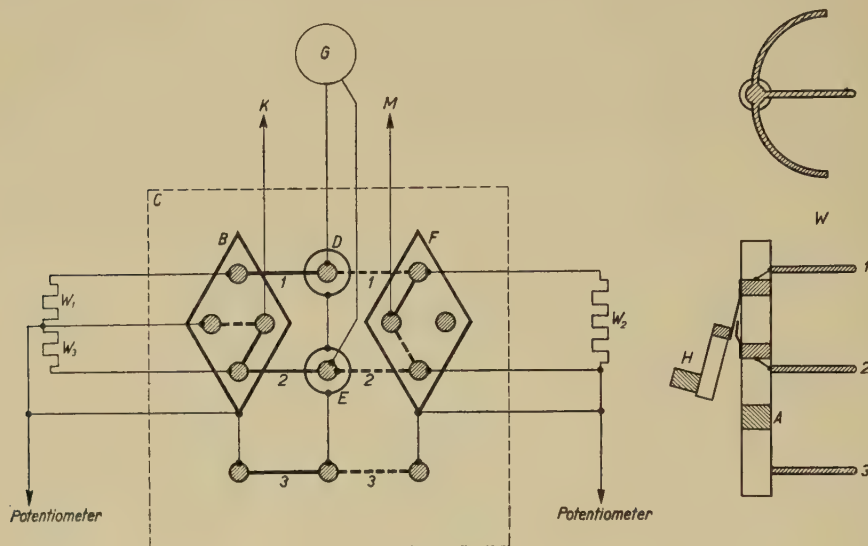


Fig. 2.

lines 1, 2 and 3, when measuring i_M along the dotted lines. The currents are not interrupted when the switch is reversed. Two of the mercury cups inside the guard ring B resp. F are connected with each other by a copper strip; the drawn line shows the position during the measuring of the current, the dotted lines while measuring the zero point with short-circuited galvanometer. The arrangement is free from leakage when the zero point with short-circuited galvanometer is the same as that with open circuit without discharge. The galvanometer is made aperiodic by the resistances W_1 and W_2 (200.000 Ω) shown in the figure; the current to K , which is always considerably larger than that to M , can be shunted by W_3 . The arrangement has been made in such a way, that the deflections of the galvanometer have the same direction for both currents; when these deflections are about the same, small changes in the zero point are of no influence.

Of course guard rings were also applied on the outside of the tube; these were made of tinfoil. It proved desirable to mount a second tinfoil ring near the seal of the lead-in-wire and in conducting connection with this wire. Otherwise, with damp weather, the glass surface could form an element with the metal of the lead-in-wire and with the tinfoil. Finally it must be mentioned, that sometimes leaking currents also occurred between the wires, stretched in the air; these currents were caused by the neighbouring gas-flames under the diffusionpumps. After screening-off the flames, so that no ions could reach the wires anymore, the leakage stopped.

With this apparatus measurements were made to find out, whether also in this case secondary electrons were set free by low velocity ions. The

electrodes were at the potentials given in figure 3 (all taken with respect to the anode of the arc), consequently metal parts at potentials > 0 V could by no means be reached by pos. ions. D , B , R and M were all at the same potential V_M , positive with regard to K , so that practically all electrons, set free from K , were moving in the direction of M . To bring the ions on K they must be deviated sideways, consequently the field between M and K may not be too weak. With $V_M = -10$ V, V_K was taken -50 V or lower; when $V_M = -5$ V, V_K was taken -25 V or lower. At this last value of V_M however the currents become so small, that the accuracy suffers a great deal. Fig. 3 shows measurements of the currents to M with

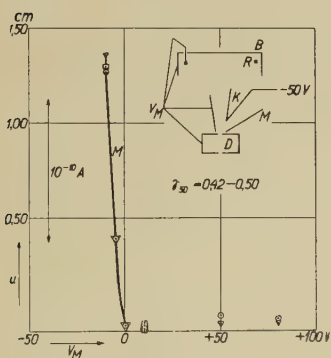


Fig. 3.

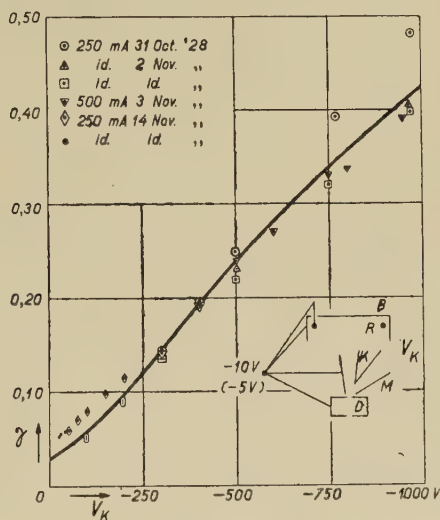


Fig. 4.

a varying value of V_M . Combined with the magnitude of the currents towards K these measurements give values of γ_{50} (the value of γ for ions of 50 V) between 0.042 and 0.050 in agreement with the results of publ. I and II. In order to find out, whether the arrangement now answered its purpose, that namely no electrons were liberated from K by metastable atoms etc., the measurements with positive potentials of V_M given in fig. 3 were carried out. Now the pos. ions cannot pass D but the metastable atoms etc. come through, so the electrons, liberated from K by these particles, can be measured separately. The fig. shows that the resultant current is nearly zero and is at any rate negligible compared with the current when $V_M = -10$ V; the most accurate measurements give only a galvanometer deflection of ≤ 0.1 mm, when $V_M = +10$ V.

However, not only those metastable atoms, etc. which come directly through the opening in D should be taken into account. According to OLIPHANT¹⁾ metastable atoms can also be formed, when pos. ions strike a metal surface. In the tube used these atoms can partly go to B to set free

¹⁾ M. L. E. OLIPHANT, Proc. Roy. Soc. A 124, 228, 1929.

electrons with an initial velocity of a few volts, and perhaps some of these electrons could reach M ; this current towards M may however be neglected. This follows from a series of measurements, where the current towards B is determined using the connections of fig. 3; the current to B did not change, when V_B was brought from $+10$ V to -10 V, so that neither directly nor indirectly electrons were set free from B as a result of the ion current towards K . Fig. 3 shows the different series of measurements for varying ion velocity: the value of the ion energy is equal to or somewhat smaller than V_K . For each series are given the magnitudes of the arc current and the date on which the measurements were carried out ¹⁾. With all series V_M was -10 V, except with the last one, where $V_M = -5$ V; consequently here the measurements could be continued on to lower ion energies. Extrapolation of the curves to zero velocity gives $\gamma_0 = 0.03$ à 0.05 . It must be noticed, that the line for γ as a function of V_K is not straight here, but shows an inflexion point. Probably this must be ascribed to the fact, that due to the geometrical arrangement of the electrodes, a change in V_K causes the pos. ions to arrive at different points of K , which perhaps are not in the same condition. The ions can also pass over to different points of K when, for a constant value of V_K , V_M is varied. The curve for γ , taken in this way, for a constant ion energy, shows indeed a similar behaviour as the curve in fig. 4.

Finally, the pressure in the part above D proved to be low enough for this experiments. Generally it was 0.0001 mm, but the same value for γ was found with a pressure five times as high ($V_K = -950$ V).

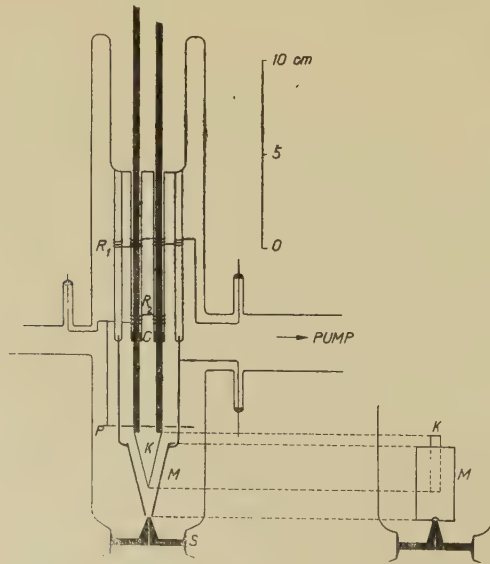


Fig. 5.

¹⁾ With the first four series the results for small velocities are so near to each other, that they could not be plotted separately, the extreme points are therefore connected by a vertical line.

§ 3. *Measurements with a tungsten collecting electrode for the pos. ions, which could be heated during the measurements.*

This tube has been constructed exactly according to the model, used for the first measurements (publ. I, fig. 6); the cone, however, which collects the pos. ions, has now been replaced by a V-shaped strip of tungsten K , 0.5 cm wide and $50\ \mu$ thick; the iron collecting electrode M for the electrons has got a corresponding form (see fig. 5). For screening off purposes a nickel plate P is mounted above the tungsten strip; this plate is kept at the potential of K . The strip K is fastened firmly to two thick chromic iron bars by means of tungsten wire. These bars can carry large currents (50 A) without danger for the seals C.

After the tube had been evacuated in the usual way at 400°C , the tungsten strip was heated repeatedly by a current of 35 A (temperature ca. 2300°K), M getting redhot at the same time. Due to the large heat capacity of M it remained hot much longer than K , and possibly during this time might deliver gas to K again. Therefore K was afterwards heated several times for such a short period, that M remained cold. This apparatus has the same drawback as that of publ. I, namely that neutral particles can set free electrons from K . The object of these experiments however is to compare the values of γ for different conditions of the surface. In order to

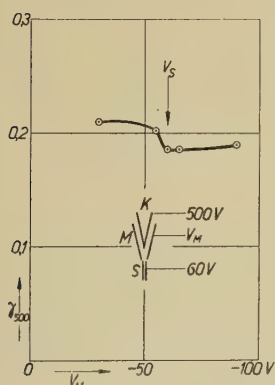


Fig. 6.

keep the number of variables as small as possible the greater part of the measurements was carried out with neon ions of an energy of about 500 V, for such a large energy the influence of the metastable atoms on the value of γ is probably small.

Fig. 6 shows the variation of γ with the potential of M for a constant ion energy of 500 V. As soon as the potential of M (V_M) becomes higher than the potential of the canal S (V_S) higher values of γ are found; this is probably due to the influence of electrons, liberated from the canal S by positive ions, which can reach M when $V_M > V_S$. On the contrary when V_M becomes much lower than V_S

the electrons set free from K might go to S instead of going to M . Therefore S was generally at -60 V and M at -70 V (all potentials measured again with respect to the anode of the arc).

With this apparatus a large number of measurements of γ was carried out with neon ions of 500 V energy (γ_{500}). In some of them the ions had an energy of 450 V; the results for this case can be reduced to 500 V by means of a correction known from the measurements of γ as a function of the ion velocity. The values of γ_{500} for cold tungsten, degassed at high temperature were determined in 17 series of measurements. These measurements were carried out during a period of 2 months; several times during this period the tungsten was made impure or oxidized on purpose; also the tube had been filled with other gases (He , Ar , O_2), afterwards it was then

evacuated again at 400° C, the tungsten heated at 2300° K or higher and the tube filled with new Ne. Sometimes this Ne was specially purified beforehand by a glow discharge in *Mg*. With 11 of the 17 series all values γ_{500} lay between 0.19 and 0.21; with 1 series values of 0.22 occurred; with 4 series values as low as 0.18, with 1 series as low as 0.16⁵. From these measurements we may conclude, that with neon the values of γ_{500} for properly degassed tungsten at room temperature is 0.20 ± 0.02 . It may be, that this value must still be slightly corrected for the influence of metastable atoms (see above).

It is not impossible, that the value of γ_{500} becomes lower after a still more thorough degassing. With the above mentioned diverging values 0.16⁵ and higher, the tungsten had been heated at 2700° K before the gas was let in; later on however when the tungsten had been heated at a temperature of still 100° higher, γ_{500} was again 0.18. In both cases γ_{500} returned to normal values in a few hours.

Occasionally the tungsten strip was heated for a short time (a fraction of a minute) at high temperature in the course of a series of measurements (see e.g. fig. 7). It should be pointed out, that γ immediately after this

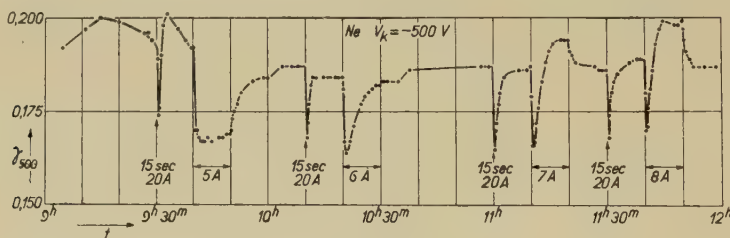


Fig. 7.

heating did not have the same value as before; at one time this value was too high, at the other too low, sometimes too low during the first half minute and afterwards too high. Seldom however γ_{500} left the interval 0.18—0.22 and a few minutes after the heating γ_{500} was back to the original value. All these phenomena must still be studied more carefully.

A few series of measurements were carried out with the tungsten kept at a higher temperature. Fig. 7 gives an example; the value of γ_{500} is plotted as a function of the time. In order that the tungsten should always be in the same condition at each start of a run at constant temperature, it was heated 10 minutes beforehand during 15 seconds with a current of 20 A. In the course of these 10 minutes the currents to *K* and *M* (i_K and i_M) were continuously measured, giving the value of γ_{500} for cold tungsten. During the first minutes the above mentioned lowering of γ_{500} took place. After this a current i_B was lead through the tungsten strip during 10 minutes, at the same time i_M was measured, finally i_K , i_M and γ_{500} were determined again after switching-off i_B . As long as the strong current i_B passes through *K* it is of course impossible to measure i_K , the value of the same was found by interpolation from the measurements before and after

the heating. At the highest temperatures a correction was necessary for the thermionic emission from the tungsten; this correction was determined separately before or after the series of measurements. The heating current of the tungsten was of influence only as far as the temperature of the tungsten was raised by it and not e.g. by its magnetic field. This follows from the fact, that the deflection of the galvanometer did not change during the first seconds after the switching on of the current, but started only after the tungsten had become hot. In fig. 7 it is remarkable that it takes some minutes before γ_{500} reaches its final value, when measuring at higher temperature; we observed at first a sharp decrease and afterwards an increase. It seems that the smaller the heating current the longer it takes to reach the final value, and that with 5 A even a period of 10 minutes is still insufficient. Fig. 7 relates to one of the last series of measurements of this kind. With most of the former measurements the 15 sec. heating with

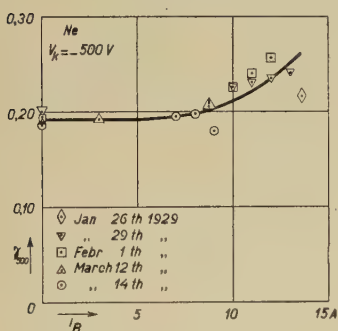


Fig. 8.

25 A was omitted; as soon as γ_{500} had become constant, the heating current was raised to the next higher value.

Fig. 8 gives a survey of all the results obtained from measurements of this kind; a heating current of 13 A corresponds to ca. 1150° K, at ca. 8 A the glowing of the strip becomes perceptible. These measurements prove that in the region of temperature considered, γ_{500} changes but slightly with the temperature; in our opinion this seems to

prove that, also when measuring at room temperature, the tungsten was in a properly degassed condition.

Quite different were the results, when the tungsten had been made impure on purpose, e.g. by removing the liquid air from the coolers, so that grease vapour from the stopcocks and mercury vapour could penetrate into the tube. When afterwards the liquid air was put on again, so that the circulating gas was being purified, γ_{500} was found to be ca. 0.32. When heating the tungsten with a current i_B of 9 A this value decreased to 0.09. Fig. 9 shows the variation of γ_{500} when measuring several times alternately with warm and cold impure tungsten. These measurements show the influence of the condition of the surface on the value of γ_{500} .

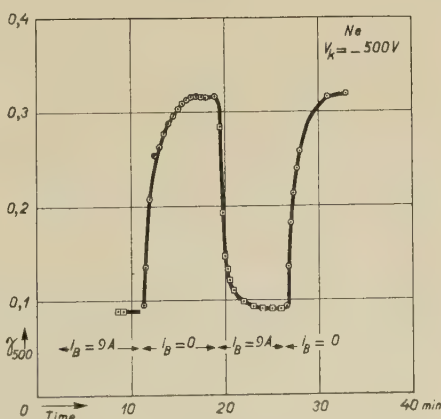


Fig. 9.

Further two series were measured with oxidized tungsten. The tungsten had been heated beforehand in an atmosphere of 0.1 mm O_2 , with the first

series very shortly (until the glowing became just visible), the second time during 1 minute. The results are plotted in fig. 10 as a function of the heating current (1st series: circles, 2nd series: triangles). Considering the very high value of φ , found by KINGDON¹⁾ for oxidized tungsten (9.2 V) we expected a very low value of γ ; the experiment gave however more than half of the value for pure tungsten.

Finally measurements were carried out, where mercury vapour could enter the tube. For this purpose the liquid air around the cooler L between the apparatus B and the diffusionpump was removed (see fig. 11). On the bottom of the cooler was a drop of mercury. Considering the location of the cooler in the circulation system, it did not seem probable, that in the long run anything else but mercury vapour would evaporate from it. γ now

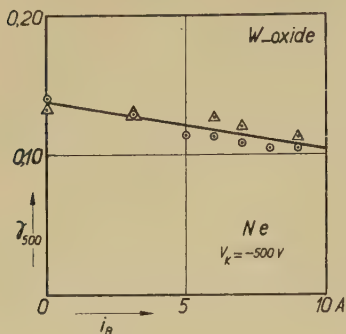


Fig. 10.

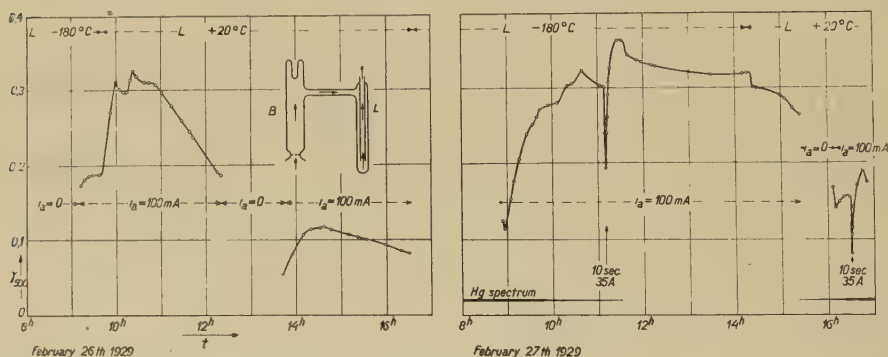


Fig. 11.

first rose to 0.32 and afterwards decreased again to 0.08, which apparently was not yet the final value. After the measurements of the first day the liquid air was put again around the cooler L and kept there when the measurements were continued on the next day. The intensity of the mercury lines, which had appeared in the arc spectrum on the previous day, reduced gradually, γ_{500} increasing at the same time, until finally it reached the constant value of 0.32. The value of γ_{500} diminished markedly as the result of heating with 35 A during 10 sec., after the heating however it increased again rapidly. When removing the liquid air from L the same results were obtained as on the previous day. The most obvious explanation of these phenomena seems to be the following: The value of γ_{500} for neon ions, striking tungsten which is made impure by Hg, is 0.32. This follows from the constant final value 0.32 during the period, in which the mercury lines were no longer visible in the arc discharge. When however, in addition to

¹⁾ K. H. KINGDON, Phys. Rev., **24**, 510, 1924.

Ne ions, also Hg ions strike the tungsten, (no liquid air around the coolers), the value of γ_{500} decreases. According to COMPTON and VAN VOORHIS¹⁾ with a mixture of equal pressures of Hg and Ne and an electron energy of 35—40 V (= cathode potential) the probability of ionisation for an Hg atom becomes thirty times as large as that for a Ne atom. The vapour pressure of Hg at 20° C is 0.002 mm, the Ne pressure in the arc 0.02 mm; thus it seems very probable that under these circumstances an important part of the current, which reaches the tungsten, consists of Hg ions. For this ion mixture the value of γ_{500} becomes evidently < 0.08 . Heating with 35 A purifies again the tungsten surface and consequently we find immediately after the heating a value of about 0.2 with pure Ne. According to the diagram γ_{500} becomes much smaller with $\text{Ne}^+ + \text{Hg}^+$. Besides it can be seen from the diagram, that, when K is at room temperature, the value of γ_{500} diminishes much more rapidly when the arc discharge is off than when it is on ($i_A = 0$ resp. 100 mA). Obviously part of the Hg is absorbed by the arc discharge.

According to these measurements we have for γ_{500} the following values :

$$\text{Ne}^+ \text{ on W} \quad \gamma_{500} = 0,20$$

$$\text{Ne}^+ \text{ on W} + \text{Hg} \quad \gamma_{500} = 0,32$$

$$\text{Ne}^+ + \text{Hg}^+ \text{ on W} + \text{Hg} \quad \gamma_{500} = 0,08.$$

The value for $\text{Ne}^+ + \text{Hg}^+$ on W is still smaller than the lastmentioned value.

§ 4. *Measurements with a homogeneous field between the collecting electrodes.*

The lower part of the apparatus used was constructed again in the same way as for the measurements of the former §§. The upper part is shown in fig. 12. The canal K in the chromium-iron piece has a thin wall; it is surrounded by two glass tubes G_1 and G_2 (see detail); on G_1 rests a chromium-iron piece C . The collecting electrodes consist of two plane nickel plates A_2 and B_2 ; above and beneath A_2 (resp. B_2) and in the same plane with it are two other plates A_1 and A_3 (resp. B_1 and B_3); all plates have been fastened to two glass bars by means of W -wire. They all have separate leads, those of A_2 and B_2 are protected against leakage in a similar way as described in § 2; here however there is no nickel ring at the inside of the glass, but the glasswall itself is interrupted by a chromic iron cylinder E to which the desired potential can be applied from outside. Due to the design of the tube it was not well possible to degas the nickel plates by means of high frequency currents. Therefore they were heated with a glow discharge, after which the gas was pumped out.

A diagram of the connections for the measurements of γ is shown in fig. 13; the potentials have been measured again with respect to the anode

¹⁾ K. T. COMPTON and C. C. VAN VOORHIS, Phys. Rev. **27**, 724, 1926.

of the arc discharge. The pos. ions are collected by A_2 , the liberated electrons by B_2 . B and C are connected over two voltmeters of equal resistance

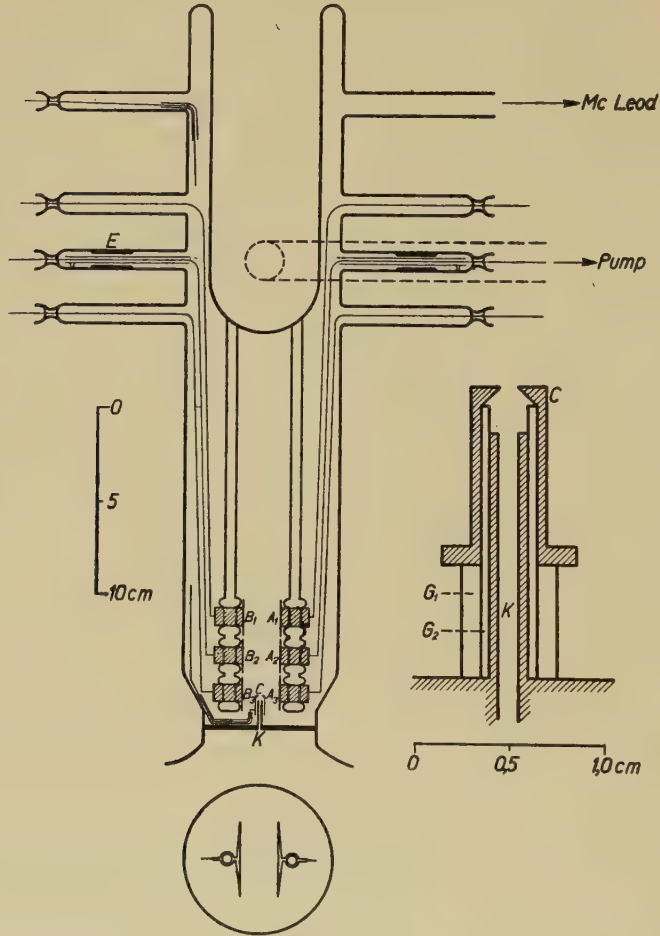


Fig. 12.

placed in series, so that V_{BC} represents the potential difference between B and C , V_{CA} that between C and A , and $V_{BC} = V_{CA}$. In this way the field between B and A is disturbed but slightly by the presence of C ; especially the field between the middle plates A_2 and B_2 may be considered as homogeneous. The potential of A is adjusted to the desired value by means of a potentiometer.

With these connections the pos. ions, coming from K and accelerated towards C will be collected on the middle of A_2 . The equations of motion of the ions are namely (see fig. 14) :

$$\left. \begin{aligned} m \ddot{x} &= \frac{eV}{d} \\ \ddot{y} &= 0 \end{aligned} \right\} \text{ with the initial conditions: } \left\{ \begin{aligned} \dot{x} &= 0 \\ \frac{1}{2} m \dot{y}^2 &= eW \end{aligned} \right.$$

for A_2 ; although very small, the current to A_3 can still be measured. This current may be explained as follows. With the pressure used (ca.

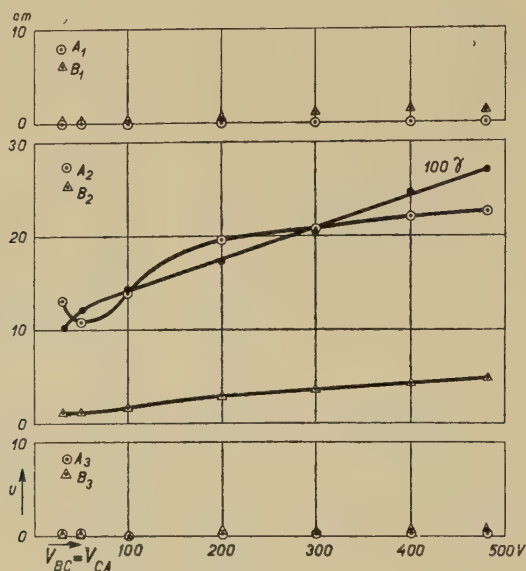


Fig. 15.

0.0002 mm) the mean free path of the Ne ions is about 65 cm, the chance of collision, when passing along A_3 (1 cm) is ca. 1 : 65. The chance that an ion at such a collision loses its charge and travels on as a neutral particle with great velocity, probably is about 1^1); so $1/65$ of the ion current will go to A_3 in the form of slow ions. The magnitude of the measured current indeed has about this value.

Ad II. According to the arrangement of the plates, the current to B_2 includes all electrons, set free from A_2 with zero velocity. However the electrons set free by pos. ions are emerging with a certain velocity, most of them with an energy of a few volts, the maximum velocity to be expected with Ne is 17 Volts ($V_i - \varphi$)²). When the electron with this highest possible velocity emerges from the middle of A_2 at a glancing angle it just arrives on B_2 for $V_{CA} > 60$ V. As long as V_{CA} is not considerably under 60 V, this influence may thus be neglected.

Ad III. 10. Pos. ions cannot reach B_2 as the potential of B_2 is > 0 .

20. The ionizing action of the electrons and pos. ions in the space between A_2 and B_2 is very small. Indeed the pressure of the gas is so low that only 2 % of the pos. ions and $1/2$ % of the electrons between A_2 and B_2 collide with gas atoms. According to what is known about the ionizing

¹) F. M. PENNING and C. F. VEENEMANS, ZS. f. Phys. **62**, 746, 1930.

²) M. L. E. OLIPHANT, Proc. Roy. Soc. A **127**, 373, 1930.

W. UYTERHOEVEN, and M. C. HARRINGTON, Phys. Rev. **36**, 709, 1930.

capacity of electrons¹⁾ and pos. ions²⁾ the amount of ionisations between A_2 and B_2 may be neglected.

30. No perceptible amount of electrons will be liberated from A_2 except by pos. ions (see Ad I).

40. As the total currents from A_1 and A_3 are already very small, the part of them, which is collected by B_2 may certainly be neglected.

50. Electrons set free from C move towards B_3 .

60. Electrons, liberated from the glass in the upper part of the tube by metastable atoms emerging from C go to B_1 .

In the foregoing it is supposed, that the condensor plates are infinite, so that the influence of the glass wall may be neglected. In reality the width of the plates is twice as great as the distance between them (see fig. 12). On purpose however the glass wall has not been screened-off, as this would distort the homogeneous electric field. Besides, the left plates were on the highest, the right ones on the lowest potential, found in the tube, so that the charged particles would move exclusively towards these plates instead of to the glasswall. No sufficient attention however has been given in these considerations to the neutral particles, as e.g. metastable atoms, which can strike the glass wall and can liberate electrons with an initial velocity of a few Volts. This current can be maintained by leakage along the glass wall. If this was only the case with metastable atoms travelling upwards from K, a correction could be applied; with a positive value of C, when no pos. ions can emerge from C, the current to B_2 indeed proves to be very small. According to OLIPHANT³⁾ however, metastable atoms will originate also from collisions of the ions with A_2 , and these atoms too can liberate electrons from the glass wall. We may assume, that the current to B_1 in fig. 15 must be ascribed to this cause, at least partly, and therefore it is possible, that the values of γ in fig. 15 should be corrected. The magnitude of this corrections however could not be determined. For future measurements it must be recommended, yet to screen-off the glass wall and to bring the screening-off material on such a high potential, that no electrons, liberated from this metal, can reach B_2 .

Fig. 15 shows that the values for γ as a function of the energy are nearly on a straight line, which however deviates downwards, when $V_{CA} = 40$ V. Perhaps this is due to the fact, that here the electron current to B_2 is no longer saturated, owing to the initial velocities (see ad II). As a matter of fact, in this region we expected on the contrary too high values for γ , since below $V_{CA} = 80$ V the electrons, liberated from K, are accelerated towards C and may be collected on B_2 if V_{CA} is small enough. For this reason the points for $V_{CA} < 60$ V are not reliable.

With this apparatus a series of measurements has been carried out suc-

¹⁾ K. T. COMPTON and C. C. VAN VOORHIS, l.c.

²⁾ R. M. SUTTON, Phys. Rev. **33**, 364, 1929.

³⁾ L.c.

cessively for different gases. For each gas two series were measured, one where the ions were collected on A_2 , the electrons on B_2 and the other

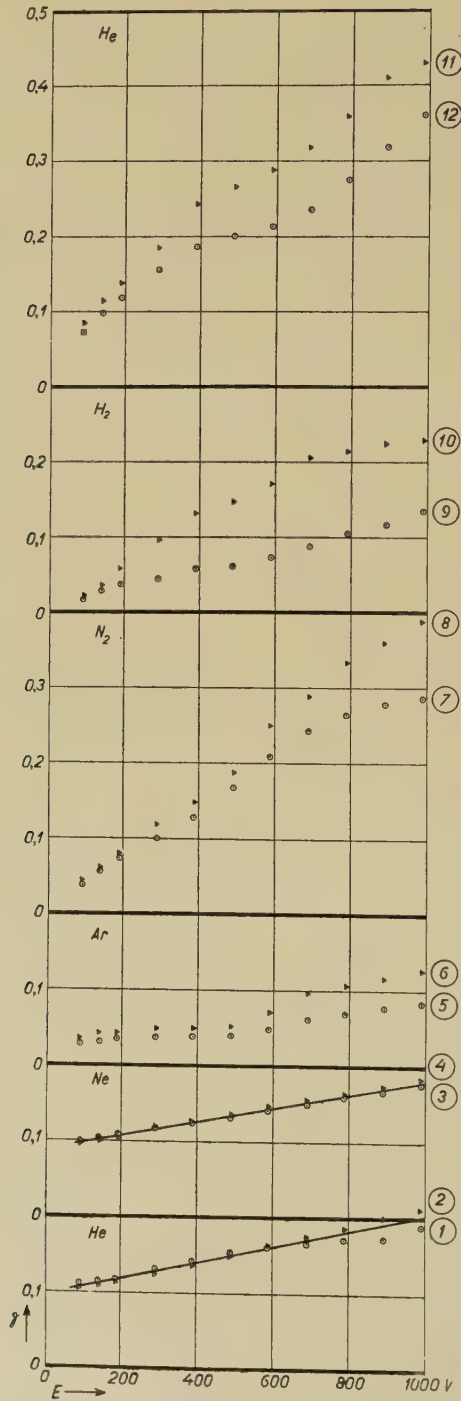


Fig. 16.

where the plate potentials were interchanged with the result, that the ions moved towards B_2 and the electrons towards A_2 . Each series was measured in two directions, with increasing and decreasing potentials, the average being plotted in fig. 16. The first runs (*Ne* and *He*)¹⁾ were in good agreement with each other as well for *Ne* as for *He*; however it may be mentioned, that the results for *Ne* were considerably lower than those of fig. 15, obtained six days before, evidently due to the change in the condition of the surface of the plates.

The results for the other gases show large irregularities, probably because of changes in the surface conditions. Very remarkable is the change in the curve for *He*, obtained after the series with H_2 . The apparatus was not baked out at 400° C between these measurements with H_2 and *He*; moreover the electrodes were not degassed. From this example it becomes again obvious, how important the previous treatment of tube and electrodes can be. All the results of fig. 16 are to be considered as preliminary ones, especially of course the series 5 and following. However even with those of series 1—4 for *Ne* and *He* the above described uncertainty remains, due to the influence of the glass wall.

It is a pleasure to the writer to thank Mr. J. MOUBIS for his assistance, as well in the construction of the tubes as in the measurements.

*Natuurkundig Laboratorium der N. V. Philips'
Gloeilampenfabrieken.*

Eindhoven, 4 October 1930.

¹⁾ The helium contained some neon, probably less than 1%.

Physiology. — *Analyse der proteolytischen Enzyme von Maja squinado durch die Adsorptionsmethode.* Von J. J. MANSOUR—BEK. (Mitteilung aus dem Institut für vergleichende Physiologie der Universität Utrecht). (Communicated by Prof. H. J. JORDAN).

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

Kurz vor dem Anfang der Untersuchungen aus der WILLSTÄTTERSchen Schule unterschied man unter den tierischen Fermenten zwischen Pepsin, Trypsin und Erepsin. Pepsin war nur wirksam in stark saurem Milieu (opt. p_H 2) und baute Eiweiss ab bis zu Albumosen und Peptonen, Trypsin wirkte am besten bei schwacher Alkalinität und spaltete Eiweiss und niedere Produkte bis zu Tri- und Dipeptiden. Ueberdies konnte es bestimmte Aminosäuren freilegen und brauchte es Aktivierung durch Enterokinase. Erepsin spaltete die Produkte der Trypsinverdauung, besonders Di- und Tripeptide bis zu einfachen Aminosäuren. Weiter nahm man in den tierischen Geweben vielfach noch ein wenig scharf definiertes "Gewebspepsin" an. Die genannten Verdauungsenzyme waren auf verschiedene Teile des Darmtrakts verteilt, und bildeten sozusagen die aufeinander folgenden Glieder einer Enzymkette. Durch diese räumliche Trennung waren sie der Untersuchung verhältnismässig leicht zugänglich.

Weit schwieriger war die Untersuchung von pflanzlichen Proteasen, die fast immer nur gemischt in Presssäften oder Extrakten zu erhalten waren. Unter ihnen nahm das Papain eine Sonderstellung ein wegen seiner Aktivierbarkeit durch Blausäure und seiner angeblichen Resistenz gegen hohe Temperaturen. Weiter unterschied man Pflanzenprotease- und Peptonase, die nach VINES¹⁾ Untersuchungen überall im Pflanzenreiche verbreitet waren. Einen weiteren Beitrag zu der Trennung und Klassifikation dieser Enzyme lieferten DERNBY's Arbeiten²⁾, woraus auf Existenz von Hefe-Pepsin, Hefe-Tryptase und Hefenereptase geschlossen wurde.

Die Arbeiten der WILLSTÄTTERSchen Schule, vor allem von E. WALDSCHMIDT—LEITZ und Mitarbeitern verfeinerten die Klassifikation der Proteasen des tierischen Verdauungstrakts. Die Stellung des Pepsins blieb unverändert. Das bisherige Trypsin zerfällt in zwei Komponenten: eigentliches Trypsin (Proteinase), das native Eiweissstoffe angreift, und Carboxypolypeptidase, welche sich an die Carboxylgruppe des Polypeptides anlagert und es dadurch für Wasser spaltbar macht. Trypsin muss durch die Enterokinase aktiviert werden; die Wirkung der Carboxypolypeptidase

¹⁾ Zahlreiche Arbeiten in *Annals of Botany*, zwischen 1905 und 1912.

²⁾ *Biochem. Zs.* **81**, 107 (1917).

wird von dieser Kinase gefördert. Das bisherige Erepsin besteht aus zwei Teilenzymen: Aminopolypeptidase, welche durch Anlagerung an die Aminogruppe der Polypeptide diese für Wasser spaltbar macht, und Dipeptidase welche bloss Dipeptide spaltet. Nach den Untersuchungen von LINDERSTRØM—LANG¹⁾ sollen für verschiedene Dipeptide verschiedene spezifische Dipeptidasen existieren, doch wird diese Auffassung noch umstritten.

In den tierischen Geweben findet man (mit Ausnahme des Pepsins) dieselben Haupttypen der Proteasen wieder, nur werden sie von andern Aktivatoren beeinflusst. Die Proteinase der Gewebe wird Kathepsin genannt (oder nach dem Organ, worin sie vorkommt Lipo- oder Hepatoproteinase u.s.w.), und es findet sich eine katheptische Carboxypolypeptidase. Ersteres Enzym braucht unbedingt einen in den Geweben vorkommenden Aktivator; das zweite wird in seiner Wirkung von ihm gesteigert. Der Aktivator ist Zookinase, welche nach den letzten Untersuchungen von WALDSCHMIDT—LEITZ mit dem Glutathion identisch sein soll. Enterokinase aktiviert diese Enzyme nicht. Künstlich können sie von H_2S und $H\ CN$ aktiviert werden, was bei den entsprechenden Proteasen des Darmtrakts nicht der Fall ist. Diese werden durch H_2S und HCN gehemmt. Weiter finden sich in den Geweben Aminopolypeptidase und Dipeptidase, welche auch von H_2S und HCN gehemmt werden.

Auch bei den pflanzlichen Enzymen finden wir, mit Ausnahme des Pepsins, im wesentlichen dieselben vier Typen von Enzymen wieder. Die Pflanzenproteinase und die pflanzliche Carboxypolypeptidase werden in ähnlicher Weise von einer Phytokinase, von H_2S und $H\ CN$, und nicht von Enterokinase aktiviert. Die Zookinase und Phytokinase sind betreffs ihrer aktivierenden Wirkung vertauschbar. Weiter finden sich auch wieder Aminopolypeptidase und Dipeptidase, die von $H\ CN$ und H_2S gehemmt werden.

Ueber die eigentliche Art der Proteasen der Wirbellosen wusste man bisher sehr wenig. Man wusste, dass Pepsin dort nicht vorkommt. Weiter fand man, dass die Säfte der Invertebraten im allgemeinen dieselben Eiweissstoffe zu verdauen im Stande waren als diejenige der höheren Tieren, mit Ausnahme vielleicht von dem Bindegewebe der Vertebraten. Eine Lokalisation der Enzyme an verschiedenen Stellen, wie bei Vertebraten gibt es, soweit bekannt, nicht. Entweder musste man annehmen, dass bei niederen Tieren ein einziges Enzym (sogen. "Urtrypsin") im Stande war, natives Eiweiss bis zu dem niedrigsten Produkten abzubauen, oder wahrscheinlicher, dass verschiedene Enzyme hier in einem Saft gemischt vorkamen. Man hatte versucht, die Enzyme vorläufig zu charakterisieren durch Bestimmung der p_H -Optima. Diese Methode bietet aber wenig Aussicht auf Erfolg, da auch für die Vertebratenproteasen die p_H -Optima der verschiedenen Substrate sehr von einander abweichen und ihre Lage

¹⁾ Zs. f. physiol. Chem. 188, 48 (1930).

stark beeinflusst wird durch verschiedene Beimischungen. Die Optima welche bei der Wirkung der Invertebraten-proteasen gefunden wurden, sind ebenfalls sehr verschieden und stimmen nicht überein mit denjenigen der Vertebratenproteasen. Auch die Spaltung von Substraten, welche für die verschiedenen Enzyme der Vertebraten spezifisch sind, gibt uns kein Recht den Schluss zu ziehen, dass in dem vorliegenden Gemisch das betreffende Enzym vorhanden ist. Es wäre doch möglich, dass hier Enzyme vorlägen welche andere Spezifität hätten und z.B. *einige* spezifische Substrate von *einem* Enzym gespalten würden, welche bei Vertebraten oder Pflanzen je von einem anderen Enzym verdaut werden. Ich will nicht sagen, dass dieses sehr wahrscheinlich ist, aber man muss mit dieser Möglichkeit rechnen.

Die Frage ist also: Stimmen die Proteasen der Wirbellosen überein mit einem der bereits definierten Enzymgruppen, oder weichen sie in ihren Eigenschaften von allen bisher bekannten Gruppen ab, so dass man für sie eine neue Gruppe bilden muss? Die einzige Möglichkeit um diese Frage zu entscheiden besteht in der Anwendung der WILLSTÄTTERschen Adsorptionsmethoden.

Die Adsorptionsmethoden beanspruchen bekanntlich viel Material (Organextrakt oder abgesonderten Verdauungssaft) für ihre Anwendung. Ich habe deshalb für die Trennungsversuche *Maja squinado* verwendet, eine Tierart, welche es erlaubte derartig grosse Mengen an Material zu bekommen. Das Material sammelte ich in der Biologischen Station in Plymouth¹⁾.

Von der Mitteldarmdrüse wurden Glyzerinextrakte angefertigt (4 Teile Glyzerin auf 1 Teil Frischgewicht der Drüse). Diese Extrakte wurden durch Glyzerinfilterpapier filtriert und die so erhaltene klare Lösung für die Adsorptionsversuche verwendet. In beschränkterem Masse kam auch Magensaft von *Maja*, aufbewahrt mit 4 Teilen Glyzerin, zur Untersuchung.

Die Resultate der Trennung und ihre Vergleichung mit dem Rohextrakte will ich hier zuerst kurz geben und dann durch einige Beispiele illustrieren. Der Rohextrakt ist im Stande natives Eiweiss, Pepton und Tri- und Dipeptide zu spalten, wie auch schon u.a. aus den Untersuchungen von KRÜGER²⁾ und SHINODA³⁾ an *Astacus* hervorgegangen war. Er ist auf keine Weise aktivierbar, weder durch Enterokinase, HCN, H₂S oder Zookinase.

Durch Adsorption gelang es erstens das Verhältnis der Spaltungsgrösse von nativem Eiweiss, Chloracetyltyrosin⁴⁾, Leucyldiglycin⁵⁾ und

¹⁾ Ich danke Direktion und Mitarbeitern der Station für Ihr freundliches Entgegenkommen.

²⁾ P. KRÜGER. Zool. Jahrb. Abt. Physiol. Bd. 45, 1928, p. 463 u. Sitzungsber. Preuss. Akad. Wiss. Phys. Math. Klasse. Bd. 26, 1929, p. 548.

³⁾ O. SHINODA. Zeitschr. vergl. Physiologie, Bd. 7, 1928, p. 323.

⁴⁾ Dieses ist bei Vertebraten-enzymen ein spezifisches Substrat für Carboxypolypeptidase.

⁵⁾ Ebenso für Aminopolypeptidase.

Glycylglycin¹⁾ zu einander zu verschieben. Daraus wurde geschlossen dass wahrscheinlich eine Proteinase, Carboxypolypeptidase, Aminopolypeptidase und Dipeptidase anwesend sind und ihre Trennung durch weitere Adsorption prinzipiell möglich ist. Bei diesen vorläufigen Versuchen ergab sich, dass bei der Adsorption mit Kaolin (und später auch mit Tonerde) die Aminopolypeptidase schwer trennbar ist und die Carboxypolypeptidase leicht trennbar ist von der Proteinase, während bei den Vertebratenenzymen gerade das Umgekehrte der Fall ist. Durch wiederholte Adsorption mit Eisenhydroxyd gelang es die Proteinase rein zu erhalten. Von dem reinen Enzym wurde dann das p_H -Optimum bestimmt auf Kasein und Gelatine. Diese Optima wurden gefunden bei 7.4 bzw. 8.1, während im Rohextrakt diese Optima bei 6.0 bzw. 6.1 liegen.

Nach der Reinigung ist merkwürdigerweise die Proteinase aktivierbar durch ein erepsinfreies Enterokinasepräparat und nicht aktivierbar durch HCN, H₂S und Zookinase. Das Optimum der gereinigten Proteinase stimmt ungefähr überein mit demjenigen von gereinigtem Vertebraten-trypsin (7, 8), das von WALDSCHMIDT—LEITZ bestimmt wurde.

Die gereinigte Proteinase spaltet Pepton und Clupeinsulfat, was auch mit der Spezifität des Trypsins übereinstimmt.

Die Dipeptidase ist dermassen unbeständig (wie die meisten Dipeptidasen), dass ihre Elution bis jetzt nicht gelungen ist.

Die Aminopolypeptidase wurde noch nicht frei von Proteinase erhalten, doch hoffe ich in nächster Zeit Ihre Trennung endgültig herbeizuführen.

Versuchsreihe 1. Wirkung des Rohextraktes auf verschiedene Substrate.

Glycyl-glycin (für die Bestimmung einer eventuellen Dipeptidase). Pro Titration (alkoholische Mikrotitration nach GRASSMANN²⁾ 0.5 cc. d.h. 2.64 mgr. ($\frac{2}{100}$ Millimol) Substrat.

0.05 cc. Rohextrakt.

0.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{10}$ n.

$p_H = 8.3$ 30° C. Zeit 6 Stunden.

Aciditätszuwachs: 1.669 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH.

Leucylglycylglycin (für die Bestimmung einer eventuellen Aminopolypeptidase). Pro Titration (alkoholische Mikrotitration nach GRASSMANN) 0.5 cc. d.h. 4.9 mgr. ($\frac{2}{100}$ Millimol) Substrat.

0.05 cc. Rohextrakt.

0.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{10}$ n.

$p_H = 8.4$ 30° C. Zeit 6 Stunden.

Aciditätszuwachs: 1.097 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH.

¹⁾ Ebenso für Dipeptidase.

²⁾ W. GRASSMANN u. W. HEYDE. Hoppe Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 183, 1929, p. 32.

Chloracetyltyrosin (für die Bestimmung einer eventuellen Carboxypolypeptidase). Pro Titration (alkoholische Mikrotitration nach GRASSMANN) 0.5 cc. d.h. 2.575 mgr. ($\frac{1}{100}$ Millimol) Substrat.

0.05 cc. Rohextrakt.

0.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{5}$ n.

$p_H = 6.2$ 30° C. Zeit 6 Stunden.

Aciditätszuwachs 0.583 cc. $\frac{1}{100}$ n. KOH.

Kasein (Für die Bestimmung einer eventuellen Proteinase). Pro Titration (alkoholische Mikrotitration nach GRASSMANN) 0.5 cc. d.h. 15 mgr. Kasein.

0.05 cc. Rohextrakt.

0.25 cc. Pufferlösung $\frac{1}{5}$ n.

$p_H = 6.2$ 30° C. 4 Stunden.

Aciditätszuwachs 2.246 cc. $\frac{1}{100}$ n. KOH.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass der Rohextrakt Kasein, Chloracetyltyrosin, Leucyldiglycin und Glycylglycin spaltet. Es wurde darauf versucht ob es möglich ist, mit verschiedenen Adsorptionsmitteln das Verhältnis der Wirkungen des Extraktes auf diese Substrate abzuändern. Da dies tatsächlich der Fall ist, wurde zu gleicher Zeit untersucht ob die adsorbierten Enzyme aus den Adsorbaten eluiert werden könnten. Die folgende Uebersicht gibt die Ausbeute der Enzyme in Prozenten des Rohextraktes und die wirklich gefundenen Titrationszahlen.

Versuchsreihe 2. Beispiel zum Adsorptionsverhalten der Enzyme.

8 cc. Rohextrakt + 8 cc. Aq.dest. + 1 cc. Kaolin. $p_H = 4$.

Elution mit 16 cc. $2\frac{1}{3}$ Ammoniumphosphat 0.6 %.

Pro Titration 0.5 cc. d.h.

1. eine Enzymmenge, übereinstimmend mit 0.05 cc. des Rohextraktes.

2. 0.125 cc. Pufferlösung $\frac{1}{5}$ n.

3. 2.64 mgr. Glycylglycin resp. 4.9 mgr. Leucylglycylglycin, 2.575 mgr. Chloracetyltyrosin oder 15 mgr. Kasein.

Verdauung von Glycylglycin 6 Stunden bei $p_H = 8.3$ 30° C.

„ „ Leucylglycylglycin 6 Stunden bei $p_H = 8.3$ 30° C.

„ „ Chloracetyltyrosin 6 „ „ $p_H = 6.2$ 30° C.

„ „ Kasein 4 „ „ $p_H = 6.2$ 30° C.

Die zu dieser Versuchsreihe gehörende Tabelle findet man auf S. 863.

Die folgenden Versuchsreihen zeigen deutlicher, dass die Proteinase und Aminopolypeptidase weitgehend das nämliche Adsorptionsverhalten besitzen.

Versuchsreihe 3.

Pro Titration 0.5 cc. d.h. eine Enzymmenge, übereinstimmend mit 0.1 cc. Rohextrakt, 0.15 cc. Pufferlösung $\frac{1}{5}$ n.

4.9 mgr. Leucylglycylglycin, bzw. 15 mgr. Kasein.

Zu Versuchsreihe 2.

	Dipeptidase		Aminopolypeptidase		Carboxylpolypeptidase		Proteinase	
			93%	1.022 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH	96%	0.562 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH	100%	2.318 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH
1-maliger Adsorption. Restlösung 1		— —						
Elution aus dem 1ten Adsorbat		— —						
2-maliger Adsorption. Restlösung 2	30%	0.499 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH	81 "	0.887 cc. "	68 "	0.397 cc. "	90 "	2.106 cc. "
Elution aus dem 2. Adsorbat		— —	13 "	0.147 "	30 "	0.177 "	10 "	0.218 "
3-maliger Adsorption. Restlösung 3	20 "	0.340 cc. "	64 "	0.697 "	34 "	0.253 "	87 "	1.947 "
Elution aus dem 3. Adsorbat		— —	5 "	0.054 "	25 "	0.147 "	5 "	0.115 "
4-maliger Adsorption. Restlösung 4		— —	50 "	0.550 "	" "	— —	81 "	1.793 "
Elution aus dem 4. Adsorbat		— —	6 "	0.067 "	26 "	0.154 cc. "	4 "	0.170 "

Verdauung von Leucylglycylglycin 6 Stunden bei p_H 8.3 30° C.

„ „ Kasein 4 „ „ $p_H = 6.2$ 30° C.

8 cc. Rohextrakt + 8 cc. Aq.dest. + 1 cc. Kaolin. $p_H = 4$. Viermaliger Adsorption. (Restlösung 4).

Darauffolgend Adsorption der 4. Restlösung mit 1 cc. Kaolin bei $p_H = 4$.

		Aminopolypeptidase		Proteinase	
4-malige Adsorption. Restlösung 4	52 %	0.906 cc.	$\frac{1}{100}$ n KOH	80 %	2.589 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH
5 „ „ „ 5	49 „	0.857 „	„ „ „	77 „	2.505 „ „ „
6 „ „ „ 6	47 „	0.815 „	„ „ „	76 „	2.458 „ „ „
7 „ „ „ 7	38 „	0.660 „	„ „ „	75 „	2.442 „ „ „

Versuchsreihe 4.

Adsorption der 4. Restlösung mit je 1 cc. Tonerde C_γ bei $p_H = 4$.

		Aminopolypeptidase		Proteinase	
4-malige Adsorption an Kaolin (s.o.). Restlösung 4	52 %	0.906 cc.	$\frac{1}{100}$ n KOH	80 %	2.589 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH
1 „ „ „ Tonerde. Restlösung 5	52 „	0.901 „	„ „ „	77 „	2.598 „ „ „
2 „ „ „ „ „ 6	45 „	0.790 „	„ „ „	76 „	2.477 „ „ „
3 „ „ „ „ „ 7	39 „	0.686 „	„ „ „	70 „	2.275 „ „ „
4 „ „ „ „ „ 8		—		70 „	2.226 „ „ „

Die nachstehende Uebersicht demonstriert die endgültige Reinigung der Proteinase mittels Ferrihydroxyd.

Versuchsreihe 5.

20 cc. Rohextrakt + 20 cc. aq. dest. + 2.5 cc. Kaolin $p_H = 4$.

4-malige Adsorption. Darauffolgende Adsorption der 4. Restlösung mit je 3 cc. Ferrihydroxyd $p_H = 7.5$.

Pro Titration 0.5 cc. d.h.

eine Enzymmenge übereinstimmend mit 0.05 cc. Rohextrakt.

0.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{6}$ n.

$\frac{2}{100}$ Millimol = 4.9 mgr. Leucylglycylglycin.

resp. 15 mgr. Kasein.

Verdauung v. Leucylglycylglycin 6 Stunden bei $p_H = 8.3$, 30° C.

„ „ Kasein 4 Stunden bei $p_H = 6.2$, 30° C.

				Aminopolypeptidase		Proteinase	
1-malige Adsorption an Kaolin. Restlösung	4	46 0/0	0.508 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH	81 0/0	1.795 cc. $\frac{1}{100}$ n KOH		
" " " Ferrihydroxyd Restl.	7	6 "	0.063 " " "	74 "	16.46 " " "		
" " " " " "	10		— — —	30 "	0.673 " " "		

Nachstehende Versuchsreihen 6—10 enthalten die Bestimmung der p_H -Optima der Wirkung des Rohextraktes und der gereinigten Proteinase auf Kasein und Gelatine.

Versuchsreihe 6. p_H -Kurve Rohextrakt-Gelatine.

Pro Titration (im Mikro-v. Slijke) 2 cc. d.h.

40 mgr. Gelatine, 0.1 cc. Rohextrakt, 1.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{5}$ -mol.

Zeit 90 Minuten.

Temp. 30° C.

p_H des Gemisches	Aciditätszuwachs in cc. $\frac{1}{10}$ n NH_2
3.2	0
4.2	0
4.9	0.25
5.3	0.53
6.1	0.74
6.2	0.72
6.7	0.70
7.5	0.60

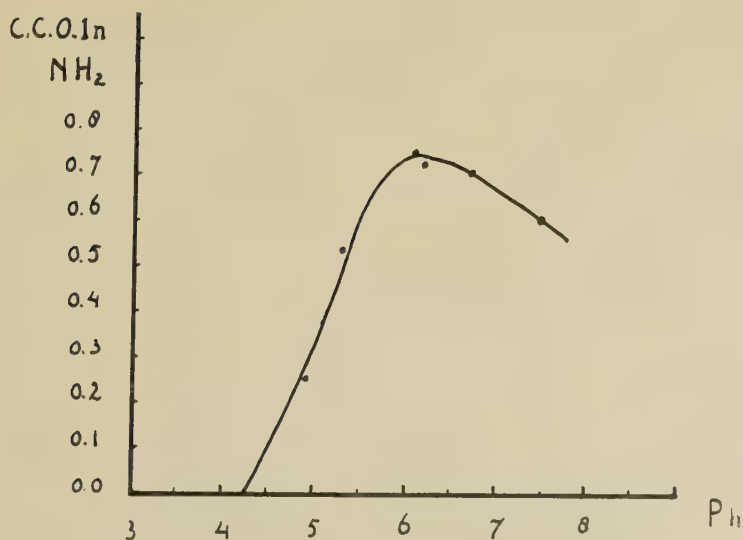


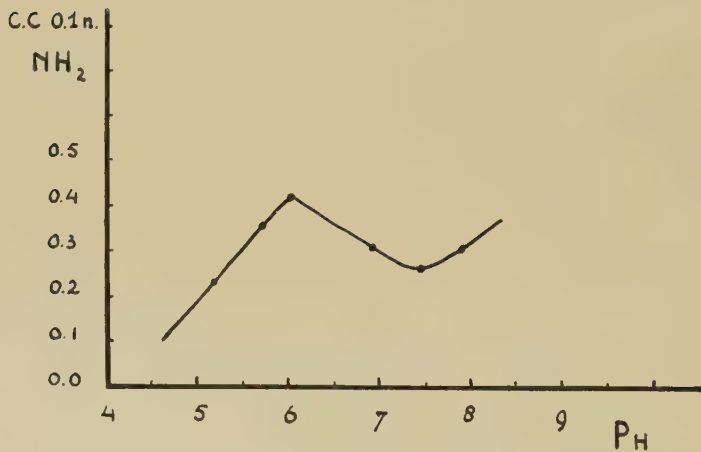
Abb. 1. p_H -Kurve Rohextrakt-Gelatine (Versuchsreihe 6).

Versuchsreihe 7. p_H -Kurve Rohextrakt-Kasein.

Pro Titration (im Mikro-v. Slyke) 2 cc. d.h.

40 mgr. Kasein, 0.1 cc. Rohextrakt, 1.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{10}$ -mol.

Zeit 90 Minuten		Temp. 30° C.	
p_H des Gemisches		Aciditätszuwachs in cc. $\frac{1}{10}$ n NH_2	
5.2		0.25	
5.7		0.38	
6.0		0.42	
6.9		0.31	
7.5		0.27	
7.9		0.31	

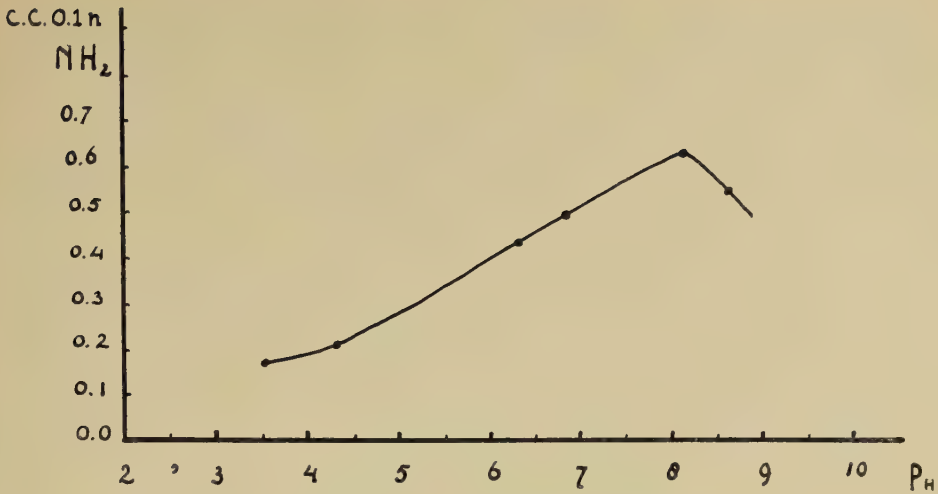
Abb. 2. p_H -Kurve Rohextrakt-Kasein (Versuchsreihe 7).*Versuchsreihe 8. p_H -Kurve Proteinase-Gelatine.*

Pro Titration (im Mikro v. Slyke) 2 cc. d.h. eine

Enzymmenge übereinstimmend mit 0.1 cc. Rohextrakt.

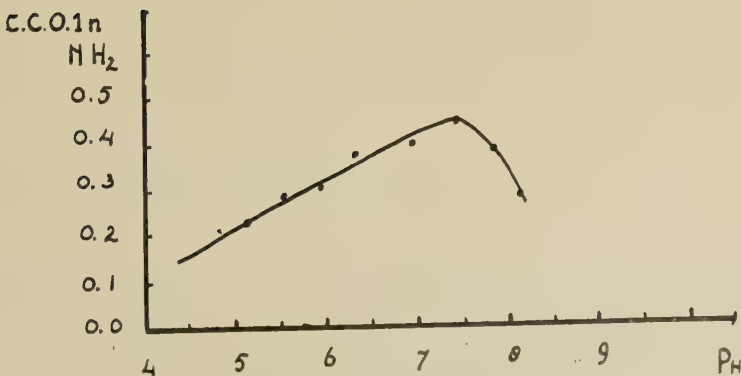
40 mgr. Gelatine 1.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{10}$ mol.

Zeit 3 Stunden		Temp. 30° C.	
p_H des Gemisches		Aciditätszuwachs in cc. $\frac{1}{10}$ n NH_2	
3.5		0.17	
4.3		0.21	
6.3		0.44	
6.8		0.50	
8.1		0.64	
8.6		0.55	

Abb. 3. p_H -Kurve Proteinase-Gelatine (Versuchsreihe 8).*Versuchsreihe 9. p_H -Kurve Proteinase-Kasein.*

Pro Titration (im Mikro-v. Slyke) 2 cc. d.h. eine Enzymmenge übereinstimmend mit 0.1 cc. Rohextrakt.
40 mgr. Kasein, 1.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{5}$ -mol.

Zeit 3 Stunden	Temp. 30° C.
p_H des Gemisches	Aciditätszuwachs in cc. $\frac{1}{10} n NH_2$
5.1	0.23
5.5	0.28
5.9	0.30
6.3	0.37
6.9	0.39
7.4	0.44
7.8	0.38
8.1	0.28

Abb. 4. p_H -Kurve Proteinase-Kasein (Versuchsreihe 9).

Die folgenden Versuche geben eine Übersicht über die Aktivationserscheinungen des Rohextraktes und der gereinigten Proteineselösung.

Versuchsreihe 10. Aktivierung des Rohextraktes durch Enterokinase.

Enterokinasepräparat aus Darmtrockenpulver, hergestellt nach WALDSCHMIDT-LEITZ¹⁾, erepsinfrei, Kinasegehalt bestimmt nach WILLSTÄTTER²⁾.

0.5 cc.: 2.35 cc. $\frac{1}{10}$ n NaOH.

Pro Titration (alkoh. Titration) 10 cc. d.h. 300 mgr. Kasein.

0,5 cc. Rohextrakt.

2 cc. Pufferl. 1 n.

p_H -8.1 Aktivierung während $\frac{1}{2}$ Stunde. Temp. 30° C.

Verdauungszeit 4 Stunden.

	Aciditäts- zuwachs in cc. $\frac{1}{10}$ n NaOH
Rohextrakt + H ₂ O	3.54 cc.
Rohextrakt + 1 cc. Enterokinaselösung	3.51 cc.
Rohextrakt + 2 cc. Enterokinaselösung	3.51 cc.

Versuchsreihe 11. Aktivierung der gereinigten Proteinase durch Enterokinase.

Enterokinase s. Versuchsreihe 10.

Pro Titration (alkoh. Titration) 10 cc. d.h. 300 mgr. Kasein,

2 cc. Proteinaselösung (übereinst. 0.5 cc. Rohextrakt). 2 cc. Pufferlösung 1 n. p_H = 8.1 Aktivierung während $\frac{1}{2}$ Stunde. Temp. 30° C.

Verdauungszeit 4 Stunden.

- I { Proteinaselösung + H₂O : 1.02 cc. 0.1 n KOH.
- { Proteinaselösung + 1 cc. Enterokinase : 1.50 cc. KOH.
- II { Proteinaselösung + H₂O : 1.35 cc. 0.1 n KOH.
- { Proteinaselösung + 1 cc. Enterokinase : 1.73 cc. 0.1 n KOH.

Versuchsreihe 12. Aktivierung des Rohextraktes und der Proteinaselösung durch Zookinase.

Zookinasepräparat aus Schweineleber, hergestellt nach WALDSCHMIDT-LEITZ³⁾.

¹⁾ E. WALDSCHMIDT-LEITZ: Hoppe Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 142. 1925, p. 223—224.

²⁾ R. WILLSTÄTTER, E. WALDSCHMIDT-LEITZ, DUNAITURRIA und G. KÜNSTNER: Hoppe Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 161, 1926, p. 190.

³⁾ E. WALDSCHMIDT-LEITZ, A. SCHÄFFNER, J. J. BEK und E. BLUM: Hoppe Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 188, 1930, p. 31.

Zookinasegehalt bestimmt durch die Wirkung auf Glycerinextrakt aus Lebertrockenpulver (Inaktives Kathepsin) nach WALDSCHMIDT—LEITZ¹⁾.

0.4 cc. Zookinaselösung 0.38 cc. $\frac{1}{10}$ n NH_2 . Pro Titration (alkoh. Titration) 10 cc. d.h. 300 mgr. Kasein, 0.5 cc. Rohextrakt resp. Proteinaselösung, übereinst. mit 0.5 cc. Rohextrakt, 2 cc. Pufferlösung 1 n.

$p_H = 8.1$. Aktivierung während $\frac{1}{2}$ Stunde. Temp. 30°C . Verdauungszeit 4 Stunden.

{ Rohextrakt + H_2O : 3.62 cc. $\frac{1}{10}$ n NaOH.

{ Rohextrakt + 2 cc. Zookinaselösung: 3.56 cc. 0.1 n NaOH.

{ Proteinaselösung + H_2O : 1.00 cc. 0.1 n NaOH.

{ Proteinaselösung + 2 cc. Zookinaselösung: 0.96 cc. 0.1 n NaOH.

Versuchsreihe 13. Aktivierung des Rohextraktes und der Proteinaselösung durch HCN und H_2S .

Pro Titration (im Mikro-v. Slyke) 2 cc. d.h.

40 mgr. Gelatine.

0.1 cc. Rohextrakt bzw. Proteinaselösung übereinstimmend mit 0.1 cc. Rohextrakt.

1.2 cc. Pufferlösung $\frac{1}{6}$ mol.

$p_H = 8.1$ Aktivierung bei 30°C . Verdauungszeit 90 Min.

{ Rohextrakt + H_2O : 0.57 cc. $\frac{1}{10}$ n NH_2 .

{ Rohextrakt + H_2S ($\frac{1}{2}$ Stunde) 0.54 cc. „ „

{ Rohextrakt + H_2S (1 „) 0.51 cc. „ „

{ Rohextrakt + H_2S (3 Stunden) 0.51 cc. „ „

{ Proteinaselösung + H_2O : 0.17 cc. $\frac{1}{10}$ NH_2 .

{ Proteinaselösung + HCN (2 Stunden) 0.15 cc. $\frac{1}{10}$ NH_2 .

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass die Proteinase einen trypsin-ähnlichen Charakter hat, da sie durch Enterokinase aktiviert werden kann, und nicht durch HCN, H_2S und Zookinase aktiviert wird. Diese etwas überraschende Erscheinung wird noch weiter untersucht werden.

ZUSAMMENFASSUNG.

Es wurde versucht mit Hilfe der Adsorptionsmethode festzustellen ob man in Magensaft und Mitteldarmdrüsenextrakt von Maja squinado (welche beide gleiches leisten können wie alle Teilenzyme der Proteolyse bei den Vertebraten zusammen) die Existenz von einem oder von mehreren proteolytischen Enzyme annehmen muss.

Die letztere Auffassung ergab sich als richtig, da sich durch Adsorption die Wirkungsgrösse der Extrakte auf verschiedene spezifische Substrate verschieben lässt. Eine Proteinase, Carboxypolypeptidase, Aminopolypeptidase und Dipeptidase müssen vorhanden sein. Die Proteinase konnte

¹⁾ E. WALDSCHMIDT—LEITZ, A. SCHÄFFNER, J. J. BEK und E. BLUM: Hope Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 188, 1930, p. 31.

gereinigt werden. Während ihr Optimum im Rohextrakte bei einem p_H von 6.0 (Kasein) und 6.1 (Gelatine) liegt, liegt es für die gereinigte Proteinase bei p_H 7.4 bzw. 8.1. Sie spaltet auch Pepton und Clupeinsulfat ¹⁾, was mit der Spezifität des Trypsins übereinstimmt. Rohextrakt ist nicht aktivierbar durch HCN, H_2S , Zookinase und Enterokinase. Nach der Reinigung ist die Proteinase merkwürdigerweise durch Enterokinase aktivierbar, was auf eine weitere Übereinstimmung mit Vertebraten-trypsin hinweist.

Laboratorium voor Vergelijkende Physiologie.

Utrecht, August 1930.

¹⁾ Die Zahlen dieser Versuche wurden hier nicht angeführt.

Botany. — *On the Ferns of Sumba (Lesser Sunda Islands)*. By O. POSTHUMUS. (Communicated by Prof. J. C. SCHOUTE.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

In the following list the Ferns gathered by the native collector IBOET of the Herbarium Buitenzorg, during the voyage of Dr. K. W. DAMMERMAN to this island (14 March 1925 to 26 May 1925) are enumerated; the material belongs to the Buitenzorg Herbarium.

The details about the localities are taken from the labels; the altitude is added, wherever it could be derived from the maps of the island; its correctness is of course approximative because the collecting work was done in the rather hilly surroundings of the indicated villages.

Remarks about the general aspect of the vegetation can be found in the report of Dr. DAMMERMAN on his voyage¹⁾ and in the report, made by H. WITKAMP²⁾ on his geological investigations of the island.

Botanical collections were made here formerly only by J. E. TEYSMANN³⁾. The Ferns, collected on this occasion were mentioned by BAKER in the book of BECCARI on "Malesia"; an additional specimen, not recorded by BAKER, was mentioned by VAN ALDERWERELT VAN ROSENBURGH in his Handbook. Moreover I could study in the Buitenzorg Herbarium some other Ferns collected in the island by TEYSMANN and not mentioned in "Malesia". The nomenclature and arrangement used is after C. CHRISTENSEN, Index Filicum, where further details may be found, except in some cases, where the quotations have been given wholly.

POLYPODIACEAE.

Dryopteris Haenkeana (Presl) O. Kuntze. *Nephrodium Haenkeanum* Presl ex Baker in Beccari, Malesia, III, p. 57, 1886. On the banks of a river. Karita, Teysmann 10695 (l.c.); Karoeni, 100 M, Iboet

1) *Natuurk. Tijdschr. Ned.-Indië*, Vol. 86, p. 27—122, 1926.

2) *Tijdschrift Kon. Ned. Aardr. Gen.* (II), Vol. 29, p. 744—774, 1912; (II), Vol. 30, p. 8—27, 484—505, 619—627, 1913.

3) *Natuurk. Tijdschr. Ned.-Indië*, Vol. 34, p. 411—441, 1874.

4) O. BECCARI, *Malesia*, Vol. 3, p. 57, 1886.

5) VAN ALDERWERELT VAN ROSENBURGH, *Handbook of the Malayan Ferns*, p. 310 1908.

184, 9-4-1926. — Malacca, Borneo, Celebes, Flores, Timor, the Philippine islands, Polynesia.

Dryopteris mollis (Jacquin) Hieronymus. *Nephrodium molle* Desvaux ex Baker in Beccari, Malesia III, p. 57, 1886. Kemala, Teysmann 10688 (l.c.). — Tropical countries.

Dryopteris sagenioides (Mettenius) O. Kuntze. In forest. Boendohero, 200 M, Iboet 314, 18-4-1925. — Birma, Malacca, W. Java¹), Sumatra, Celebes, the Philippine islands.

Aspidium sülfolium (Willdenow) Mettenius. In forest, along a river. Maoe Marroe, 400 M, Iboet 465, 10-5-1927, Karita, Teysmann 16411.

Idem, forma *Teysmannianum* v.A.v.R. Mengiliwai, near Maoe Marroe, 450 M, Iboet 449, 9-5-1925. Lologooh, 100 M, Iboet 303, 16-4-1925. — Malay Islands, the Philippines, New Guinea, Polynesia.

Polystichum carvifolium (Kuntze) C. Christensen. In forest, terrestrial fern. Kananggar, 700 M, Iboet 499, 15-5-1925. — South Africa, tropical Asia, China, Japan, Malay Islands, Polynesia, Sandwich islands.

Polybotrya H.B. Willd.

Polybotrya Teysmannianum (Baker) nov. comb. *Acrostichum Teysmannianum* Baker in Beccari Malesia, III, p. 57, 1886. *Stenosemia Teysmannianum* (Baker) Diels in Engler-Prantl., Nat. Pflanzenfam. I, abt. IV, p. 198, 1899. Karita, Teysmann 10696 (l.c.; specimen in H.B.).

The co-type specimens from the Buitenzorg Herbarium agree with the description; the dimorphous leaves, of which both a fertile and a sterile one is present, show, however, a free venation; only the basal forked veins of the neighbouring segments, extending in the costal wing of the pinnatifid pinnae closely approach each other; fusion has not been observed, but may occur occasionally. The leaves are broadly lanceolate, the lower pinnae being of about the same size as the middle ones. The frond lacks both the triangular form of *S. aurita* Pr. and *S. pinnata* Copel., and the copious areolae. It seems to me, after the descriptions, to be allied to *Polybotrya stenosemioides* (Baker) Copeland from Borneo (Serawak) and the Philippines (Luzon); it may be identical with this species.

Campium Presl.

Campium semicordatum (Baker) Copeland, Philipp. Journal of Science, XXXVII, p. 708, fig. 31, pl. 23, 24, 1928. *Phegopteris Hosei* var. *sumbense* Van Alderwerelt van Rosenburgh, Bulletin dept. Agric., XXI, p. 7, 1908; Malayan Ferns, p. 510, 1908. Maoemeroe, 450 M, Iboet 422, 7-5-1925; Karita, Teysmann 10693. — British India, Ceylon.

¹) Has been mentioned from this island only from the first description: Mettenius, *Phegopteris* and *Aspidium*, 1858, p. 113, (as *Aspidium sagenioides*; type specimen; Zollinger (1803). The Fern mentioned by RACIBORSKI; *Pteridophyta* von Buitenzorg, p. 179, 1898, belongs, according to VAN ALDERWERELT VAN ROSENBURGH, to *D. dissecta* O. K. (Malayan Ferns, p. 197, 1908, as *D. RACIBORSKII* v. A. v. R.; Supplement, p. 165, 1916).

Nephrolepis Schott.

Nephrolepis exaltata (L.) Schott. Along a river. Maoe Marroe, 450 M, Iboet 464, 10-5-1927. — Tropical countries.

Davallia Smith.

Davallia denticulata (Burm.) Mettenius. In forest. Lologooh 100 M, Iboet 271, 14-4-1925. — Fernando Po, Madagascar, tropical Asia and Australia, Polynesia.

Microlepis Presl.

Microlepis speluncae Moore. *Davallia speluncae* Hooker ex Baker in Beccari, Malesia, III, p. 57, 1886. Along rivulets. Near Karoeni, 100 M, Iboet 183, 7-4-1927, Kadoemben, 25 M, Teysmann 10677 (l.c.). — Tropical and subtropical countries.

Diplazium Swartz.

Diplazium esculentum (Retzius) Swartz. *Asplenium esculentum* Presl ex Baker in Beccari, Malesia, III, p. 57, 1886. Karita, Teysmann 10691 (l.c.). — Tropical Asia, Polynesia.

Diplazium sylvaticum (Bory) Swartz. *Asplenium sylvaticum* Presl ex Baker in Beccari, Malesia, III, p. 57, 1886. Karita, Teysmann 10692 (l.c.). — Mauritius, tropical Asia, Queensland, Polynesia.

Asplenium Linnaeus.

Asplenium adiantoides (Linnaeus) C. Christensen. On rocky slopes. Karoeni, 100 M, Iboet 178, 7-4-1925. — S.E. Africa, Madagascar, tropical Asia and Australia, Malay Archipelago, Polynesia, New Zealand.

Asplenium laserpitiifolium, Lamarck. Epiphytical, in forests. Kananggar, 700 M, Iboet 536, 18-5-1925. — Malay Archipelago, tropical Australia, Polynesia.

Asplenium Nidus Linnaeus. In forest. Maoe Marroe, 450 M, Iboet 378, 4-5-1925. — Tropical Africa, Madagascar, tropical Asia and Australia, Polynesia.

Asplenium tenerum Forster, forma *sumbense* nov forma (distinguished by shorter, rather coriaceous leaves). Terrestrial. Kananggar, 700 M, Iboet 496, 15-5-1925. — Seychelles, British India, Ceylon, Malay Archipelago, Polynesia.

Adiantum Linnaeus.

Adiantum capillus veneris Linnaeus. On rock slopes, along river. Maoe Marroe, 450 M, Iboet 466, 10-5-1925. — West and South Europe, Africa, temperate Asia, tropical Asia and Australia, Polynesia, tropical and subtropical America.

Adiantum caudatum Linnaeus. On rock slopes. Lologooh, 100 M, Iboet 304, 16-4-1925. — Tropical Africa and Asia, Malay islands, New Hebrides.

Adiantum hispidulum Swartz. Terrestrial, in forest. Kananggar, 700 M, Iboet 498, 15-5-1925. — South Africa, Madagascar, British India, Malay Archipelago, tropical Australia, Polynesia.

Adiantum lunulatum Burmann. In forest, on rocks. Between Waikaboebak

and Karoeni, 100 M, Iboet 337, 21-4-1925. — Tropical Africa, Asia and Australia; Polynesia; Central America.

Pteris Linnaeus.

Pteris vittata Linnaeus. *Pteris longifolia* Linnaeus ex Baker in Beccari, Malesia, III, p. 57, 1886. Kemala, Teysmann 10698 (l.c.). — Tropical Africa, Asia, Australia and Polynesia.

Vittaria Smith.

Vittaria elongata Swartz. Epiphytical, in forest. Kananggar, 700 M, Iboet 534, 18-5-1925. — Tropical Asia and Australia, Malay Archipelago, Polynesia.

Anthrophyum Kaulfuss.

Anthrophyum callifolium Blume. In forest, on trees. Maoe Marroe, 450 M, Iboet 379, 4-5-1925. — Malay Archipelago, Polynesia.

Polypodium Linnaeus.

Polypodium phymatodes Linnaeus. Terrestrial, in forest. Lologooh, 100 M, Iboet 268, 13-4-1925. Maoe Marroe, 450 M, Iboet 488, 12-5-1925. — Tropical Africa, Madagascar, Seychelles, China, tropical Asia and Australia, Polynesia.

Polypodium subauriculatum Blume. Epiphytical. Kananggar 700 M, Iboet 53, 18-5-1925. — Malay Archipelago, tropical Australia, Samoa, New Caledonia.

Cyclophorus Desvaux.

Cyclophorus adnascens (Swartz) Desvaux. *Polypodium Koenigii* Blume ex Baker in Beccari, Malesia, III, p. 57, 1886. Kemala, Teysmann 10679 (l.c.). — Tropical Asia, Polynesia.

SELAGINELLACEAE.

Selaginella Spring.

Selaginella plana Hieronymus. *Selaginella canaliculata* Baker in Beccari, Malesia, III, p. 57, 1886. In forest. Karita, Teysmann 10681 (l.c.). Lologooh, 100 M, Iboet 267, 13-4-1925. Maoe Marroe 450 M, Iboet 469, 11-5-1925. British India, Malay Archipelago.

The number of Ferns, now known from Sumba, is 26. Of this total 23 are known from Java both of its western and eastern part, only one, *Dryopteris sagenioides* O.K. from West-Java only. These species have also been found throughout the Archipelago, most of them even far without; some of them are even pantropical.

Of the 3 species, not found in Java, the following remarks can be made.

Dryopteris Haenkeana, which is mentioned in the literature from the Malay Peninsula, Borneo, Celebes, Flores, Timor, the Moluccas, the Philippines, and Polynesia is often considered to be a broad leaved form of *D. unita* (L.) O.K. which is found throughout tropical Asia, and is not uncommon in Java.

Campium semicordatum Copeland is known to occur with certainty otherwise in British India only. It has often, for instance in the Handbook of Malay Ferns by van Alderwerelt van Rosenburgh, been mixed up in *Leptochilus virens*. Its distribution is therefore still uncertain; probably it occurs also in the Philippines.

Polybotrya Teysmannianum (Baker) has its nearest affinity to *P. stenosemioides* of Sarawak and Luzon. Only the two latter species represent floral elements different from Java.

As may be demonstrated in a forthcoming paper, the relations of the Fern-flora of the Lesser Sunda-islands with that of Celebes, the Moluccas, New Guinea and Australia are, compared with Java, very small.

Botany. — *Physiologische Untersuchungen über die Anthocyane.* Von
L. W. KUILMAN. (Communicated by Prof. J. C. SCHOUTE.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

I.

Wenn man nachschlägt, was im Laufe der Jahre in bezug auf das Anthocyanproblem veröffentlicht wurde, so wird man finden, dass sehr viele Forscher sich bestreben, die Lösung der verschiedenen Fragen auf diesem Gebiete mittels chemischer Methoden herbeizuführen. Sehr oft hat man versucht, den chemischen Charakter des Farbstoffes kennen zu lernen oder auch eine Untersuchung angestellt nach den Prozessen und Reaktionen, welche sich am Aufbau des Anthocyans beteiligen. Diese Arbeiten haben sich aber nicht im Stande gezeigt, das Problem zu klären. Denn trotz der Arbeiten WILLSTÄTTERS und KARRERS weisen unsere Kenntnisse der Chemie des Anthocyans noch sehr grosse Lücken auf. So beschränken sich z.B. die bisherigen Strukturforschungen auf diesem Gebiete immer auf den Farbstoffen der Blüten und der Fruchthäute; die Konstitution der in den Vegetationsorganen enthaltenen Anthocyane ist durchaus unbekannt.

Untersuchungen in dieser Richtung sind schon sehr frühzeitig angestellt worden. Selbstverständlich kann man den älteren Theorien, welche das Anthocyan als ein Umwandlungsprodukt des Chlorophylls betrachteten, oder den roten Farbstoff mit den Gerbstoffen in Beziehung setzten, nur einen historischen Wert beilegen. Aber auch die neueren Arbeiten, nach welchen das Anthocyan entweder als ein Oxydations- oder auch als ein Reduktionsprodukt irgend eines Chromogens aufzufassen sei, haben das Problem nicht in einer endgültigen Weise zu lösen vermocht.

Besonders in England wird die Anschauung vertreten, das Anthocyan werde in letzter Instanz durch einen Oxydationsvorgang in der Pflanze gebildet. Zur Stützung dieser Hypothese wird von WHELDAL ONSLOW auf eine ähnliche Bildungsweise anderer Farbstoffe — z.B. Indigo — hingewiesen. Auch beruft sie sich auf die Tatsache, dass die rote Farbe in manchen Fällen nicht zu Tage tritt, falls die Pflanzen den Sauerstoff entbehren. Es wird aber klar sein, dass diese Angaben ohne weiteres noch keinen Beweis zu bilden vermögen, dass die Umwandlung Chromogen — Anthocyan eine Oxydation ist.

Aber auch die entgegengesetzte Anschauungsweise hat das Problem bis jetzt nicht zu seiner Lösung zu führen vermocht. Es war schon längst bekannt, dass die Flavone im Pflanzenreich überaus verbreitete Stoffe sind. Als nun von WILLSTÄTTER in einwandfreier Weise dargetan wurde, dass die gelben Farbstoffe sich durch Reduktion in die roten umwandeln lassen,

haben sich seitdem immer mehr Forscher bestrebt, die Existenz eines derartigen Reduktionsvorganges auch in der Pflanze ausfindig zu machen. Wegen der Schwierigkeiten, welche mit der Isolierung der beiden Farbstoffe verknüpft sind, hat man sich fast immer mit dem Befund begnügt, dass die Anwesenheit von Flavonen in Pflanzen, welche zu bestimmten Zeiten ihres Lebens Anthocyan enthalten, recht wahrscheinlich ist. So lange aber der experimentelle Beweis, dass ein Flavon und ein Anthocyan, welche sich in chemischer Hinsicht nur durch die Oxydationsstufe von einander unterscheiden, ihr Vorkommen in der Pflanze mit einander abwechseln, noch aussteht, sind die Voraussetzungen dieser Reduktionstheorie nicht sicher gestellt.

Die chemische Seite des Anthocyanproblems ist also noch weit von ihrer Lösung entfernt.

II.

1.

Nicht selten war man auch bestrebt einen tieferen Einblick in die Ursachen der Rotfärbung durch das Studium des Gaswechsels roter Blätter zu erhalten. Es ist zweifelsohne der Anschauungsweise, dass die Anthocyane die pflanzlichen Oxydations- oder Reduktionsprodukte irgend eines Chromogens seien, zu verdanken, dass man vielfach versucht hat, Beziehungen zwischen der Anthocyanbildung und andern Oxydations- oder Reduktionsvorgängen in der Pflanze ausfindig zu machen. Es gab aber noch einen zweiten Faktor, welcher zu einer Untersuchung auf diesem Gebiete anregte. Sobald man die Abhängigkeit der Assimilationsintensität von der Wellenlänge des Lichtes kennen lernte, war damit auch die Frage nach einem etwaigen physikalischen Einfluss auf den Assimilationsprozess gestellt. Werden auch etwa durch den roten Farbstoff Strahlenbezirke absorbiert, welche für eine normale Assimilation unentbehrlich sind?

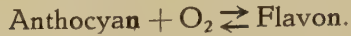
Die experimentellen Methoden, welche man zur Lösung dieses Problems benutzt hat, sind aber fast nie einwandfrei gewesen. In vielen Fällen waren sie sogar sehr mangelhaft, indem die Forscher das Versuchsmaterial unter einer Glasglocke der Einwirkung des Sonnenlichtes aussetzten, und das Gas innerhalb der Glocke vor und nach dem Versuch analysierten. Ausser WILLSTÄTTER hat sich, wenn es Assimilationsmessungen an roten Blättern galt, kein Forscher der weit besseren, schon im Jahre 1887 von U. KREUSLER ausgearbeiteten Durchströmungsmethode bedient. Folglich gerieten die verschiedenen Forscher zu oft ganz entgegengesetzten Schlussfolgerungen. So findet man z.B. bei ED. GRIFFON (1899)¹⁾, dass die oft geringere photosynthetische Wirksamkeit der roten Blätter nicht dem Anthocyan, sondern dem oft niedrigen Chlorophyllgehalt anthocyanhaltiger Organe zu verdanken sei. Dementgegen gibt COMBES an (1910)²⁾, dass die roten

¹⁾ Ann. sci. nat. (bot.), Paris, Sér. 8. X; 1899, S. 1—123.

²⁾ Rev. gén. bot., XXII, 1910. S. 177—212.

Blätter in bezug auf ihre Assimilationsleistung weit hinter den grünen zurückstehen, und dass die Bildung des Anthocyans offenbar aufs engste mit dem Prozess der Kohlensäureassimilation verknüpft sei.

KURT NOACK hat die Beziehungen zwischen den Anthocyanen und dem Assimilationsvorgang theoretisch zu begründen versucht. Er setzte in der Pflanze ein Gleichgewicht zwischen den Anthocyanen und den Flavonen voraus :



Die Lage dieses Gleichgewichts soll nach NOACK bestimmt werden durch die Menge des Sauerstoffs, welche pro Zeiteinheit im Assimilationsprozess freigemacht wird. Ist die Assimilation intensiv, so ist diese Menge gross: das Gleichgewicht verschiebt sich nach der Seite des Flavons. Ist aber die Assimilation nur gering, so soll eine mehr oder weniger starke Anthocyanbildung im Gewebe stattfinden, indem sich das Gleichgewicht nach der linken Seite verrückt.

Diese und andere Arbeiten veranlassten uns zu einer eingehenden Untersuchung noch den Beziehungen zwischen den Anthocyanen und der Kohlensäureassimilation. Zur Messung der Assimilationsintensität bedienten wir uns der schönen und einwandfreien Methode, welche schon vor fünfzehn Jahren von WILLSTÄTTER zu diesem Zweck ausgearbeitet wurde. Für eine eingehende Beschreibung sei auf die ausführliche Abhandlung des Verfassers ¹⁾ hingewiesen. Es sei nur bemerkt, dass diese Methode eine Beobachtung der Assimilation in Intervallen gestattet, und also hütet vor Fehlern, welche durch die Schwankungen der Assimilationsleistung des Versuchsmaterials während einer längeren Versuchsdauer verursacht werden.

2.

Die Beziehungen, welche von den verschiedenen Forschern im Laufe der Jahre zwischen der Kohlensäureassimilation und den Anthocyanen vorausgesetzt wurden, waren nicht immer eines ähnlichen Charakters. Wenn es sich handelte um die Art und die Menge der Lichtstrahlen, welche vom roten Farbstoff absorbiert werden, so ist der Einfluss, welche möglicherweise daraus auf die Kohlensäureassimilation hervorgeht, ein rein physikalischer: er hat mit der chemischen Natur des Farbstoffes nichts zu schaffen. Nach COMBES und NOACK aber soll das Anthocyan in irgend einer Weise beim Chemismus der Assimilation beteiligt sein. Nun brachten wir die Blätter in unseren Versuchen nicht unter Bedingungen maximaler Lichtintensität zum Assimilieren; und es war also ohne weiteres nicht möglich zu entscheiden, ob eine etwaige niedrige Assimilationsleistung roter Organe durch die chemischen Beziehungen des Anthocyans zu der Assimilation verursacht wurde, oder ob diese Erscheinung auf die Absorption bestimmter Strahlenbezirke durch das Anthocyan zurückzuführen sei. Diesem Umstand zufolge hatten wir uns an erster Stelle mit den physikali-

¹⁾ Rec. des trav. bot. Néerl. 1930.

schen Beziehungen des Anthocyans zur Photosynthese zu beschäftigen.

Die Lösung dieser Frage zeigte sich ziemlich einfach, indem sich aus einigen Versuchen ergab, dass sich bei den Purpureavarietäten von einem derartigen Einfluss auf die Assimilationsleitung nichts bemerken lässt. Praktisch bedeutet das, dass die Absorption bestimmter Farben durch das Anthocyan auch bei den jugendlich und herbstlich roten Blättern für die Chlorophylltätigkeit von keiner Bedeutung ist. Denn die Spektra der verschiedenen Anthocyanen sind unter einander nur wenig verschieden, und in bezug auf ihren Anthocyangehalt stehen diese Blätter fast immer weit hinter den Blättern der Purpureavarietäten zurück.

Die meisten Forscher haben die Frage nach einem etwaigen Einfluss des Anthocyans auf die photosynthetische Wirksamkeit der roten Varietäten zu lösen versucht, indem sie einen Vergleich machten zwischen den Kohlensäuremengen, welche vom Laub dieser Pflanzen und von den Blättern der grünen Stammformen zerlegt werden. Es schleicht in dieser Weise aber ein sehr unsicheres Element in die Versuchsergebnisse ein. Denn es lässt sich gar nicht sagen, ob die beiden Varietäten sich nur hinsichtlich des Anthocyangehalts voneinander unterscheiden, oder ob auch noch andere, die Assimilation beeinflussende Faktoren hinzukommen.

Es finden sich aber auch sehr oft an den roten Varietäten selbst auch grüne Blätter, welche sich sehr gut als Vergleichsmaterial der roten benutzen lassen. Bei der Blutbuche z.B. enthalten die etwas beschatteten Blätter den Farbstoff nicht oder nur in geringen Mengen; aus der untenstehenden Tabelle ist aber ersichtlich, dass der Chlorophyllgehalt von der erniedrigte Lichtintensität nicht oder nur wenig beeinträchtigt wird. Wenn wir nun die Assimilationsleistung dieser beiden Blattarten miteinander vergleichen, so haben wir damit den Fehler der älteren Forscher umgangen, und ist der Einfluss anderer Unterschiede zwischen den roten und den grünen Blättern möglichst vollständig ausgeschaltet. Die Ergebnisse unserer Versuche findet man in der nächsten Tabelle:

TABELLE 1.

Assimilationsleistung der roten und der grünen Blätter einiger Purpureavarietäten.

Versuchspflanze	Fagus silvatica L. var. purpurea Ait.		Corylus maxima Mill. f. atrosanguinea	
	rot	grün	rot	grün
Assimilationsleistung pro $22\frac{1}{2}'$ und 3 dm^2	12	12	7	8.5
Verhältnis der Chlorophyllmengen (in gleich grossen Blattflächen)	58	: 55	35	: 46
Verhältnis der Assimilationszahlen	0.94	: 1.0 ¹⁾	1.1	: 1.0 ¹⁾

¹⁾ Weil es hier Verhältniszahlen gilt, wählten wir immer für die Assimilationszahl der roten Blätter die Zahl 1.

Aus diesen Daten wird ersichtlich, dass bei *Fagus* die pro Oberfläche berechnete Assimilationsleistung für die roten und für die grünen Blätter dieselbe ist; während im zweiten Fall die roten Blätter eine etwas geringere Assimilationsfähigkeit aufweisen. Berechnet man die Menge der zerlegten Kohlensäure aber pro *g* Chlorophyll (WILLSTÄTTERSche Assimilationszahl), so findet man bei *Fagus* eine geringfügige Erniedrigung, bei *Corylus* aber eine geringfügige Erhöhung der Assimilationszahl für die roten Blätter.

Die beiden Versuche führen also zu dem Schluss, dass die Assimilationsleistung der Purpureavarietäten von der Lichtabsorption des Anthocyans nicht beeinträchtigt wird.

Es geht aber aus ihnen nicht hervor, dass man auch eine chemische Funktion des Anthocyans in den Prozessen der Kohlensäureassimilation in Abrede zu stellen habe. Denn es wäre sehr wohl möglich, dass es eine derartige Beziehung des Anthocyans zu der Assimilation nur bei denjenigen Pflanzen gäbe, welche den Farbstoff zu bestimmten Zeiten ihres Lebens enthalten.

3.

Zur Lösung dieser letzten Frage beschäftigten wir uns besonders mit den Pflanzen, welche in ihrer Jugend und im Frühling während einer kurzen Zeit nach dem Entfalten mehr oder weniger grosse Mengen des Farbstoffes enthalten.

Es fragt sich dabei an erster Stelle, ob die jugendlich roten Blätter, ähnlich wie von WILLSTÄTTER für die jugendlich grünen dargetan wurde, auch während einer kurzen Zeit nach dem Entfalten eine starke Erhöhung der Assimilationszahl aufweisen. Zur Beantwortung dieser Frage stellten wir eine Versuchsreihe an mehreren *Acer*arten an, denen die nächsten Daten entnommen sind.

TABELLE 2.

Die normale Erhöhung der Assimilationszahl bei den jugendlichen, anthocyanhaltigen Blättern von *Acer platanoides* L.

Versuchspflanze	Acer platanoides		
Farbe der Blätter	rot	grün	grün
Assimilationsleistung pro $22\frac{1}{2}'$ und 3 dm^2	11	16	16.5
Verhältnis der Chlorophyllmengen (in gleich grossen Blattflächen)	32	: 88	: 99
Verhältnis der Assimilationszahlen	1.9	: 1.0	: 1.0

Es zeigt sich also, dass die jugendlich roten Blätter in dieser Hinsicht ein ganz normales Verhalten aufweisen.

Weiter ist aus dem hier angeführten Beispiel besonders deutlich ersichtlich, wiesehr es seinen Nutzen hat, neben den Assimilationsmessungen auch einen Vergleich zu machen zwischen den Chlorophyllmengen, welche die Versuchsblätter enthalten. Die von gleichen Blattflächen pro $22\frac{1}{2}'$ und 3 dm^2 zerlegte Menge Kohlensäure ist in dem obenstehenden Versuch für die roten Blätter weit geringer als für die grünen. Die Chlorophyllanalyse ergibt jedoch, dass die Assimilationsleistung der roten Blätter ganz normal ist; und dass von einer, von der Anwesenheit des Anthocyans herrührenden, auffällig niedrigen Assimilationsleistung gar nicht die Rede sein kann, weist doch die Assimilationszahl ihren üblichen hohen Wert auf.

Es fragt sich aber, ob es immer einen derartigen Unterschied in der Assimilationsleistung der roten und der grünen Blätter gibt, wie es von NOACK in seiner theoretischen Betrachtungsweise vorausgesetzt wurde. So etwas ist nicht der Fall. Wir ziehen jetzt ein Beispiel heran, wo der Unterschied zu einem Minimum herabgesunken ist:

TABELLE 3.

Geringfügige Unterschiede in der assimilatorischen Leistungsfähigkeit der roten und der grünen Blätter von *Malus pumila* Miller var. *domestica* C. K. Schneider f. *Niedzwetzkyana* Dieck.

Versuchspflanze	Malus pumila var. domestica		
	braun (=rot + grün)	grün	grün
Assimilationsleistung pro $22\frac{1}{2}'$ und 3 dm^2	14 (.2)	15 (14.8)	15.3
Verhältnis der Chlorophyllmengen (in gleich grossen Blattflächen)	36	: 59	: 69
Verhältnis der Assimilationszahlen	1.8	: 1.1	: 1.0

Wenn wir nun einen Vergleich zwischen den relativen, von den verschiedenen Blättern enthaltenen Chlorophyllmengen und ihrer assimilatorischen Leistungsfähigkeit machen, so ergibt sich, dass die rote Farbe des Laubes sich in eine grüne ändert zu einer Zeit, wo in den Blättern noch eine reichliche Chlorophyllbildung stattfindet. Der hohe Wert der Assimilationszahl in der Jugend ist aber Ursache, dass die roten Blätter in diesem Falle zu einer fast gleich intensiven Assimilation befähigt sind wie die grünen. Trotzdem war das rote Versuchsmaterial gar nicht dem Ergrünen nahe; es wies eine tiefbraune Farbe auf, welche von einer Verbreitung des Anthocyans in fast allen grünen Gewebeteilen herrührte.

Die Ergebnisse des letzten Versuches machen es wenigstens sehr fraglich, ob die roten Blätter in Bezug auf die Assimilationsgrösse tatsächlich immer hinter den grünen zurückbleiben. Jeder Zweifel in dieser Hinsicht wurde aber beseitigt durch die Ergebnisse der Versuche, welche wir an zwei anderen Pflanzen anstellten:

TABELLE 4.

Die roten Blätter assimilieren stärker als die grünen: *Chaenomeles japonica* Lindl.
und *Paeonia albiflora* Pall.

Versuchspflanze	Chaenomeles japonica			Paeonia albiflora	
Farbe der Blätter	rot	halbrot	grün	rot	grün
Assimilationsleistung pro 22 $\frac{1}{2}$ ' und 3 dm ²	14.5	13.0	13.0	28	22
Verhältnis der Chlorophyllmengen (in gleich grossen Blattflächen)	33	: 59	: 69	97	: 79
Verhältnis der Assimilationszahlen	2.0	: 1.2	: 1.0	1.1	: 1.1

Zur Erklärung dieser Erscheinung sei auf eine ähnliche Beobachtung WILLSTÄTTERS hingewiesen. In seiner schönen Arbeit: „Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure“, findet man auf S. 90 einige Angaben über den Gang der Assimilationswerte in den jugendlichen Blättern. Aus der dort angeführten Tabelle geht hervor, dass die Assimilationsleistung in sehr vielen Fällen während einer kurzen Zeit nach dem Entfalten stark ansteigt, um später etwas herabzusinken, bevor sie auf ihrer „sommerlichen“ Höhe verharret. Man findet also im Verlauf der Assimilationsleistungen bei vielen Pflanzen ein Maximum.

Sind nun derartige Gewächse zu einer Anthocyanbildung befähigt, so soll nach NOACK das Anthocyan aus den Blättern verschwunden sein, sobald die Assimilationswerte, bei ihrer ersten starken Ansteigung, den sommerlichen Wert überschreiten. Denn die Rotfärbung der Blätter wird nach diesem Forscher von der Intensität der Kohlensäureassimilation beherrscht, und für eine Anthocyanbildung ist also erforderlich, dass die Assimilationsleistung der roten Blätter hinter derjenigen des grünen, ausgewachsenen Blattes zurücksteht.

Die Versuche, welche wir an *Chaenomeles* und *Paeonia* anstellten, zeigen aber, dass die Voraussetzung NOACKS nicht zutrifft. Offenbar ist das Anthocyan in den Blättern dieser Pflanze noch anwesend zu einer Zeit, da die Assimilationsbeträge das jugendliche Maximum aufweisen. Und das Ergrünen dieser Pflanzen wird nicht von einer Ansteigung, sondern von einem Herabsinken der Assimilationswerte begleitet.

Dass wir nun andererseits auch Pflanzen fanden, deren sich entwickelnde rote Blätter immer eine geringere assimilatorische Leistungsfähigkeit zeigen als die etwas älteren, schon grünen, ist mit dieser Schlussfolgerung nicht im Widerspruch, sondern vielmehr im Einklang. Die Bildung des roten Farbstoffes und die Zerlegung der Kohlensäure sind offenbar zwei von einander ganz unabhängige Erscheinungen. Das Ergrünen des jugendlichen roten Laubes findet in ganz willkürlichen Entwicklungsperioden statt: Bald, wenn die Blätter schon ihre maximale Assimilationsfähigkeit auf-

weisen, und bald auch wenn dieselbe nur noch wenig ausgebildet ist. Das erste war der Fall *Chaenomeles*, *Paeonia* und *Malus*; das letzte findet man bei *Berberis Neuberti* Baumann:

TABELLE 5.

Die roten Blätter assimilieren weniger intensiv als die grünen; sie weisen aber auch einen niedrigen Chlorophyllgehalt auf: *Berberis Neuberti*

Versuchspflanze	<i>Berberis Neuberti</i>		
Farbe der Blätter	rot	grün	grün
Assimilationsleistung pro 22 $\frac{1}{2}$ ' und 3 dm ²	12	15	17
Verhältnis der Chlorophyllmengen (in gleich grossen Blat flächen)	65	: 83	: 75
Verhältnis der Assimilationszahlen	0.8	: 0.8	: 1.0

Es wäre aber verfrüht, die niedrigen Assimilationswerte der roten Blätter der Anwesenheit des Anthocyans zuzuschreiben; ist es doch vielmehr wahrscheinlich, dass die geringere photosynthetische Wirksamkeit des anthocyanhaltigen Laubes durch den niedrigen Chlorophyllgehalt verursacht wird. Auch die Ergebnisse der Versuche, welche wir an *Acer* machten, sind vielleicht in derselben Weise zu erklären.

Jedoch soll man sich in dieser Hinsicht vor übereilten Schlussfolgerungen hüten. So gibt COMBES z.B. an, dass die jugendlich roten Blätter von *Ailanthus glandulosa* Desf. sich durch ein wenig intensive Assimilation von den etwas älteren, grünen unterscheiden. Chlorophyllanalysen hat COMBES aber nicht angestellt; auch findet man bei ihm keine Angaben in bezug auf das Alter seines Versuchsmaterials. Folglich ist der Schluss, dass die niedrige Assimilationsintensität mit der Anwesenheit des Anthocyans zusammenhängt, verfrüht. Es fragt sich denn auch, ob der Unterschied, der von COMBES in bezug auf die Assimilation zwischen den roten und den grünen Blättern beobachtet wurde, nicht viel geringer gewesen wäre, falls er gearbeitet hätte mit roten Blättern, welche möglichst alt waren, und mit grünen, aus denen das Anthocyan eben verschwunden war.

Diese Voraussetzung trifft zu. Wir stellten zahlreiche Assimilationsmessungen an den Blättern von *Ailanthus* an, und beobachteten sehr oft, dass die roten Blätter eine geringere Assimilationsintensität aufwiesen als die grünen. Nur in einem Fall war die von den roten Blättern zerlegte Menge Kohlensäure derjenigen, welche von den grünen Blättern verarbeitet wurde, weit überlegen. Und gerade in diesem Versuch fügten wir zur Umschreibung des Versuchsmaterials zu unseren Notizen die Worte: „Rot, möglichst alt“ hinzu.

TABELLE 6.

Assimilationswerte der roten und der grünen Blätter von *Ailanthus glandulosa* Desf.

Farbe der Blätter	Assimilationsleistung pro 22 $\frac{1}{2}$ ' und 3 dm ²
rot	12
rot	10
grün	13
grün	14
rot, möglichst alt	18
grün	16
grün	16

Die Angaben einer niedrigen Assimilationswert anthocyanhaltiger Gewebe konnten wir also nur in dem Falle bestätigen, dass mit dem Anthocyangehalt eine niedriger Chlorophyllgehalt verknüpft war. Sehr oft findet man anthocyanhaltige Blätter, welche zu einer gleich grossen, oder auch grösseren Assimilation befähigt sind als die grünen, welche sich zu derselben Zeit, oder auch etwas später von derselben Pflanze pflücken lassen.

III.

I.

Durch das Studium der Assimilationsintensität roter Blätter werden unsere Kenntnisse bezüglich der physiologischen Bedeutung des Anthocyans also nicht erweitert. Und weil auch mit der chemischen Bearbeitung des Problems fast unüberwindliche Schwierigkeiten verknüpft sind, ist also ein anderes Verfahren zu suchen, falls man einen tieferen Einblick in die betreffenden Fragen zu erhalten wünscht.

Wir haben nun zur näheren Erforschung der Anthocyanphysiologie uns einer vielfach beobachteten physiologischen Eigenschaft des roten Farbstoffs bedient, nämlich der Abhängigkeit seiner Bildung von dem Licht und von der Temperatur. Es war eine schon längst bekannte Tatsache, dass die Pflanzen sich in vielen Fällen umso stärker rot färben, je höher die Lichtintensität, und je niedriger die Temperatur ist. Die meisten Forscher haben das Auftreten des Anthocyans unter diesen Umständen einer Zuckeranhäufung in der Pflanze zugeschrieben. Nun ist es nicht unwahrscheinlich, dass diese Aussenfaktoren eine Erhöhung der Zuckerkonzentration im Gewebe herbeizuführen vermögen; auch wurde von OVERTON und von COMBES dargetan, dass die Anthocyanbildung von einer Zuckerspeicherung in den Blättern gefördert wird, oder dass diese Erscheinungen oft parallel gehen.

Aber nicht immer lässt sich der Einfluss einer starken Beleuchtung, und

einer niedrigen Temperatur auf den Rötungsvorgang in dieser Weise erklären. Denn die Anthocyanbildung beschränkt sich, auch wenn sie von dem Licht und von der Temperatur beeinflusst wird, nicht auf die chlorophyllführenden Organen. Es ist aber aus den wenigen in dieser Hinsicht angestellten Untersuchungen kaum ersichtlich, wie man sich den Lichteinfluss und die Abhängigkeit von der Temperatur vorzustellen habe.

Wir haben nun versucht dem Prozess der Anthocyanbildung etwas näherzukommen, indem wir eine Untersuchung anstellten nach der Weise, in welcher der Anthocyanaufbau in einem Gewebe, das kein Chlorophyll enthält, mit dem Licht und mit der Temperatur zusammenhängt.

2

Züchtet man die Keimlinge von *Fagopyrum esculentum* im Dunkeln, so sehen sie blassgelb aus; nur die Keimblätter zeigen an vereinzelter Stellen eine schwach rötliche Farbe. Setzt man die Pflänzchen dem Lichte aus, so fängt nach einer kürzeren oder längeren Zeit ein Rötungsprozess an, der in den Keimblättern von einer Chlorophyllbildung begleitet wird. In den Hypokotylen dagegen geht der Vorgang gesondert vor sich und wird dort auch nicht von dem Ergrünen der Kotylen beeinflusst: Trennt man vor der Beleuchtung mit einem Scheere die Keimblätter von den Keimlingen ab, so werden die Hypokotylen auch rot. In den Kotylen ist es aber ohne weiteres nicht zu entscheiden, ob die beiden Prozesse mit einander zusammenhängen, und deshalb präzisiert unsere Aufgabe sich dahin, dass wir eine Untersuchung anzustellen haben nach der Licht- und der Temperaturabhängigkeit der Anthocyanbildung in den Hypokotylen der Keimlinge von *Fagopyrum esculentum*.

3

Der Befund LINSBAUERS ¹⁾ und BATALINS ²⁾, nach welchem eine relativ kurze Beleuchtung der Keimlinge genügt, damit sie sich nachher im Dunkeln rot färben, konnten wir leicht bestätigen. Setzt man die Keimlinge während einiger Stunden dem Lichte aus, und bringt man sie zu einer Zeit, da sich von einer Rotfärbung noch nichts beobachten lässt, wieder in die Dunkelkammer zurück, so findet auch unter diesen Umständen — vollständigem Lichtabschluss — eine Anthocyanbildung in den Keimlingen statt. Wir schliessen daraus, dass der Prozess der Anthocyanbildung sich aus wenigstens zwei Teilprozessen zusammensetzt: *a.* eine photochemische Reaktion, und *b.* eine chemische, gewöhnliche Dunkelreaktion. Die erste Umwandlung betrachten wir als die Umwandlung eines Prochromogens in ein Chromogen. Für die weitere Umsetzung des Chromogens in den Farbstoff ist offenbar das Licht nicht erforderlich.

Es fragt sich nun, ob die beiden Reaktionen, ausser durch die Abhängig-

¹⁾ Wiesner Festschrift, Wien 1908, S. 421—436.

²⁾ BATALIN, Actahorti Petr., 1880.

keit von dem Lichte, auch in andern Hinsichten von einander verschieden sind. Zur Beantwortung dieser Frage, stellten wir eine Untersuchung nach dem Einfluss der Temperatur auf die beiden Reaktionen an.

Wir setzten eine grosse Menge von Keimlingen, welche in geräumigen Schalen auf Filtrierpapier gezüchtet wurden, dem Tageslicht aus. In dem Augenblick, da sie sich zu röten anfangen, bringen wir sie wieder in die Dunkelkammer zurück ($T = 20\text{ C.}$). Beobachtet man nun den Verlauf der Anthocyanbildung bei dieser Temperatur, so stellt sich heraus, dass die Keimlinge sich allmählich starker rot färben, bis nach vierzig Stunden das Maximum erreicht ist. Darauf wird eine Umwandlung des Anthocyans merkbar, indem der Farbstoffgehalt in den Hypokotylen sich wieder erniedrigt. Diese Umwandlung des roten Farbstoffs geht aber nur sehr langsam vor sich; und der Ab- oder auch Umbau des Anthocyans ist offenbar ein ganz anderer Prozess als die Bildung des Farbstoffes.

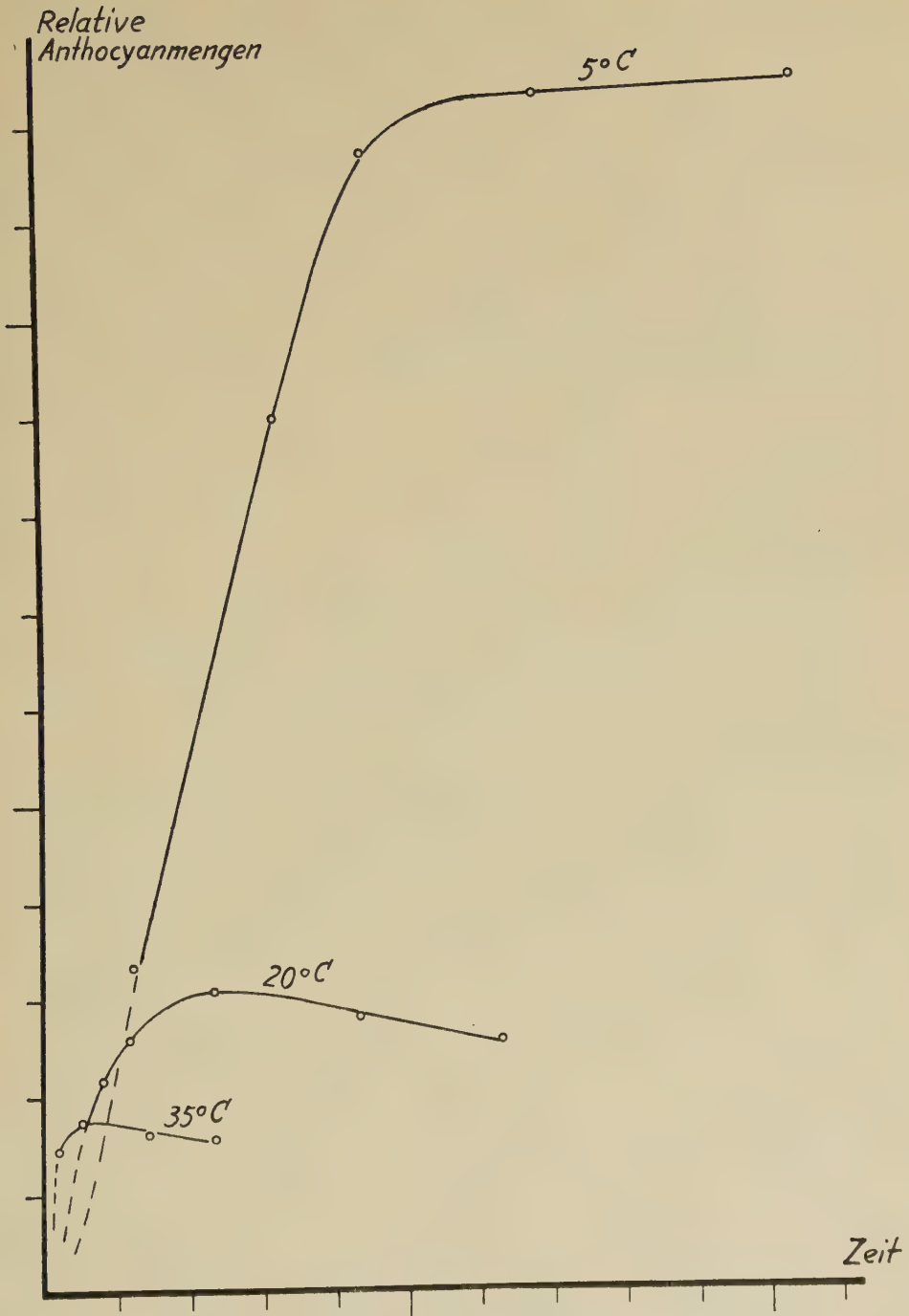
Beobachtet man den Verlauf der Rotfärbung im Brutschrank, bei einer Temperatur von 35 C. , so findet man ganz ähnliche Erscheinungen; nur ist die maximale Farbstoffmenge unter diesen Umständen schon nach etwa zehn Stunden gebildet.

Und schliesslich sei erwähnt, dass im Eisschrank etwa sechs Tage erforderlich sind, bevor die Hypokotyle ihren Höchstbetrag an Anthocyan enthalten. Man sehe auch die graphische Darstellung S. 887.

Aber noch in einer ganz andren Weise wird die Bildung des Anthocyans unter den beschriebenen Umständen von der Temperatur beeinflusst. Macht man nämlich einen Vergleich zwischen den Farbstoffmengen, welche sich, nach einer vorhergehenden Beleuchtung unter denselben Umständen, zu bilden vermögen, so ergibt sich, dass die Pflänzchen sich umso stärker rot färben, je niedriger die Temperatur ist. Selbstverständlich wird in den Keimlingen während der Beleuchtung immer dieselbe Menge des Chromogens gebildet, wenn nur die Lichteinwirkung zu derselben Zeit stattfindet. Es wird also bei einer niedrigen Temperatur aus derselben Menge des Chromogens mehr Farbstoff gebildet, als bei einer höheren Temperatur. Wir schliessen daraus, dass das Chromogen sich besonders bei einer höheren Temperatur ausser in den Farbstoff noch in eine zweite, zurzeit unbekannte Verbindung verwandelt.

Die Abhängigkeit der Lichtreaktion von der Temperatur ist eine ganz andere. Je höher die Temperatur, bei welcher man die Keimlinge beleuchtet, umso stärker färben die Keimlinge sich nachher im Dunkeln rot. Daraus geht hervor, dass im Licht nicht nur eine photochemische, sondern auch eine chemische Reaktion stattfindet, und dass wir den Temperaturkoeffizienten der letzteren beobachteten, sind doch die photochemischen Vorgänge von der Temperatur unabhängig.

Die Bildung des Anthocyans wird also in den Keimlingen von *Fagopyrum esculentum* durch ein Zusammengehen warmer Licht- und



Verlauf der Anthocyanbildung in den Keimlingen von *Fagopyrum esculentum* Moench, nach einer vierstündigen Beleuchtung bis zum Rotwerden;
 $T = 35^{\circ} \text{ C.}; 20^{\circ} \text{ C. und } \pm 5^{\circ} \text{ C.}$

kalter Dunkelperioden gefördert. Ähnliches wurde von mehreren Forschern, z.B. BONNIER, für andere Pflanzen beobachtet. In den Kotylen der Buchweizenkeimlinge kann von einer Zuckeranhäufung unter diesen Umständen schwerlich die Rede sein, und die erwähnten Versuche machen es also fraglich, ob der indirekte Einfluss des Lichtes für die Rotfärbung wohl diejenige Bedeutung hat, als von den verschiedenen Forschern vorausgesetzt wird.

Die oben besprochenen Untersuchungen wurden im Pflanzenphysiologischen Laboratorium der Gemeindlichen Universität, Amsterdam, angestellt. Für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein stetes Interesse spreche ich dem Direktor, Herrn Professor TH. WEEVERS meinen besten Dank aus.

Biochemistry. — *The conditions of activation of washed zymin, II.* By A. A. STHEEMAN. (Communicated by Prof. A. J. KLUYVER.)

(Communicated at the meeting of October 25, 1930).

I.

In a previous communication ¹⁾ experiments were described which aimed at elucidating the conditions of activation of a zymin preparation inactivated by washing it with water until it proved unable to set up alcoholic fermentation. The usual way of interpreting this inactivation is the assumption that the zymin is rendered inactive because the agent which in the fermenting complex activates the apo-zymase has been removed by the washing or at least because the amount of it is diminished below a definite concentration. However the results obtained in the earlier investigation with zymin and in those by KLUYVER and STRUYK ²⁾ with maceration juice leave no doubt that the process of inactivation is much more complicated. When we realise that to all probability various substances, present in the original zymin, must co-operate in some way or other to induce the series of chemical reactions known as alcoholic fermentation, it is obvious that the removal of each of these substances gives rise to circumstances incompatible with those required for fermentation.

Now the experiments described in the foregoing communication prove conclusively that by washing a zymin preparation with water different stages of inactivation are obtained depending on the intensity with which the washing process is executed. It was easy to distinguish these various stages of inactivation from each other sharply.

In the *first stage of inactivation* the reactivating effect of the boiled washings could be substituted by the effect caused by adding a suitable amount of acetaldehyde or of methylene blue to the mixture of washed zymin, glucose and potassium phosphate.

In the *second stage* the hydrogen-accepting substance mentioned did not show the slightest positive reactivating action whereas in this case the presence of hexosebiphosphate in a suitable amount made the inactive zymin readily ferment the glucose.

In the *third stage* the presence of hexosebiphosphate in the medium did no more suffice to reactivate the zymin, in this case a mixture of an extract

¹⁾ Proc. K. Akad. Wetensch. Amsterdam, **32**, 426 (1929).

²⁾ A. J. KLUYVER and A. P. STRUYK, Proc. K. Akad. Wetensch. Amsterdam, **30**, 569, (1927).

A. J. KLUYVER and A. P. STRUYK, Biochem. Zeitschr. **201**, 212 (1928).

A. P. STRUYK, Diss. Delft 1928.

from the inactivated zymin¹) (called: "proteinsolution free from co-enzyme") and of a hexosebiphosphate solution made the inactive zymin ferment the sugar at a normal rate.

The fourth stage was called that one in which a mixture of hexosebiphosphate and of the zyminextract added to the fermenting mixture gave no rise to reactivation whilst the boiled washings still possessed the power to induce a normal fermentation.

Experiments carried out at a later time made it highly probable that the reactivating effect of the extract of the inactivated zymin had to be ascribed to its action as a hydrogenacceptor. We were able to obtain washed zymin preparations which could no more be reactivated by hexosebiphosphate in large amounts but only by a mixture of hexosebiphosphate and methylene blue. In other experiments it was possible to substitute the reactivation effected by the extract of an inactivated zymin by that of suitable amounts of methylene blue.

In future the *fourth stage* of inactivation will be called that one in which the washed zymin will no more ferment glucose even in the presence of a mixture of potassium phosphate and hexosebiphosphate and methylene blue or of the two first mentioned substances along with proteinsolution f.f.c.

It is obvious, as the zymin in the fourth stage may still be reactivated by the boiled washings, that there is missing another principle which along with the substances mentioned above is able to substitute the boiled washings in their reactivating action on the washed zymin.

The first substance the reactivating power of which had to be considered in this respect was the substance isolated from yeast by VON EULER and designated by him as "the co-enzyme of alcoholic fermentation".

It may be stated at once that indeed this substance proved to be the last missing reactivating principle. The experiments reported in this communication deal with the conditions in which an inactive zymin may be reactivated by this substance.

II.

Experimental.

The washing of the zymin as well as the further arrangement of the experiments was performed in the same manner as was described earlier; the quantitative fermentation apparatus according to VAN ITERSON-KLUYVER, which allows a fermentation under *strictly* anaerobical conditions, being used again. All solutions used were saturated at the temperature of the experiments (25° C) with carbondioxide and with toluene.

The substance named by VON EULER "the co-enzyme of alcoholic fermentation" called by us in the following VON EULER's principle (E.P.)

¹) The extract has always been prepared from a zymin washed till its fourth stage of inactivation was reached.

was obtained from the same baker yeast ("Koningsgist") as was used for the preparation of the zymin. For the isolation I started with a liquid which was obtained by boiling 300 grams of yeast for one minute with 100 cc. of water, filtering the suspension on a large Buchner filter and washing the residue with 50 cc. of water. Six K.G. of yeast were worked up at a time. In isolating the substance from the clear brown filtrate the method described by VON EULER¹⁾ was strictly adhered to. The various preparations obtained showed the following properties. The presence of pentose, adenine and combined phosphor could be demonstrated. The SELIWANOFF test as well as the test of VON IHL-PECHMANN for "fructose" were fully negative. A slight permanganate-like colour was obtained with sodium nitroprusside and ammonia perhaps indicating the presence of a trace of glutathione. The analytical results, 14.4—14.9 % N and 7.4—7.6 % P., agreed well with those mentioned by VON EULER. An intensively purified preparation contained 15.85 N and 7.58 % P.

A.

The first set of experiments shows the way in which a zymin washed till it is in its fourth stage of inactivation may be reactivated.

6 grams of zymin were twice washed for 15 minutes with 50 cc. of water. After having been centrifuged, each time for 15 minutes, the final zymin residue was suspended in water again and made up to 24 cc. In each experiment 1.5 cc. of this suspension (0.375 gr. of zymin) was added to the solution mentioned below and the mixture made up with water to 5.1 cc. One cc. of each of these mixtures was introduced into the fermentation apparatus.

The hexosebiphosphate solution used contained 10 mgrs. of organic P. per cc.

One cc. of the solution of E.P. contained 2 mgrs. of this substance.

Besides 0.25 gr. of glucose the solution contained:

- Exp. 1. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1 cc. methylene blue sol. sat. (mbl).
- Exp. 2. 0.5 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. proteinsol. f. f. c.
- Exp. 3. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl.
- Exp. 4. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl. + 1 cc. E.P.
- Exp. 5. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1 cc. mbl. + 1 cc. E.P.
- Exp. 6. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. E.P.
- Exp. 7. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.25 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. E.P.
- Exp. 8. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1 cc. E.P.
- Exp. 9. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1 cc. acetaldehyde (1%) + 1 cc. E.P.
- Exp. 10. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. acetaldehyde (1%) + 1 cc. E.P.
- Exp. 11. 2.5 cc. of the boiled washings concentrated 10 times.

¹⁾ H. VON EULER and K. MYRBÄCK, Naturwiss. 17, 291 (1929).

TABLE A.

Time in hours	Evolution of CO ₂ in cc. at atmospheric pressure.										
	Number of experiment.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
2	—	—	—	1.6	—	—	—	—	—	1.8	1.5
4	—	—	—	4.1	—	1.7	—	—	—	3.5	3.1
6	—	—	—	5.8	—	4.1	—	—	—	4.8	4.7
20	—	—	—	12.1	—	10.6	—	—	—	11.3	12.5

The above set of experiments demonstrates clearly that the inactivity of the zymin is not the result of an induction phenomenon. The negative result of the addition of an amount of Na-hexosebiphosphate equal to 5 and 10 mgrs. of combined P. per 5 cc. (c.f. exp. 3 and exp. 2) excludes this assumption. According to the current view the inactivated zymin has to be considered as being free from co-enzyme. In this connection it may be emphasized that exp. 5, 8 and 9 show that an addition of E.P. to the fermenting mixture gives no rise to reactivation. This substance, however, possesses reactivating properties when in the medium along with it there occurs as well a suitable amount of hexosebiphosphate or of hexosebiphosphate and methylene blue c.q. acetaldehyde (exp. 4, 6, 10 cf. also exp. 7).

We may conclude from these experiments that a zymin preparation after having been washed free from hexosebiphosphate but still containing a suitable amount of VON EULER's principle will show the phenomenon that it cannot be reactivated by the simple addition of methylene blue or acetaldehyde whilst the addition of a suitable amount of hexosebiphosphate will have a restoring effect.

This result is in agreement with the experiments described in the foregoing communication as to the reactivating effect of hexosebiphosphate on a washed zymin in the second stage of inactivation.

B.

The following set of experiments shows the effect of the addition of various amounts of VON EULER's principle on a zymin washed to such an extent that it would no more ferment glucose even in the presence of a mixture of hexosebiphosphate and of methylene blue (fourth stage of inactivation).

6 grams of zymin were twice washed with 50 cc. of water. The zymin suspension was made up to 24 cc. In each experiment 1.5 cc. of this

suspension (0.375 gr. of zymin) was added to the following solutions and made up with water to a total volume of 5.1 cc.

One cc. of each of these mixtures was introduced into the fermentation apparatus.

Besides 0.25 gr. of glucose the solutions contained 1 cc. of a solution of VON EULER's principle; the amount of this substance used in each experiment is given below.

The hexosebiphosphate solution used contained 10 mgrs. of organic P. per cc.

- Exp. 1. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1 cc. saturated solution of methylene blue (mbl).
 Exp. 2. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosphate.
 Exp. 3. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosphate + 1 cc. mbl.
 Exp. 4. 0.5 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosphate + 1 cc. proteinsol. f. f. c.
 Exp. 5. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1 cc. mbl. + E.P. = 5 mgrs.
 Exp. 6. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl. + E.P. = 5 mgrs.
 Exp. 7. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + E.P. = 5 mgrs.
 Exp. 8. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl. + E.P. = 2 mgrs.
 Exp. 9. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl. + E.P. = 1 mgr.
 Exp. 10. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl. + E.P. = 0.5 mgr.
 Exp. 11. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl. + E.P. = 0.2 mgr.
 Exp. 12. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl. + E.P. = 0.1 mgr.
 Exp. 13. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1 cc. mbl. + E.P. = 1 mgr.
 Exp. 14. 2.5 cc. of the boiled washings concentrated 10 times.

TABLE B.

Time in hours	Evolution of CO_2 in cc. at atmospheric pressure.													
	Number of experiment.													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 1/2	—	—	—	—	1.7	2.3	—	1.8	1.3	0.7	—	—	—	1.9
3	—	—	—	—	3.8	3.8	—	3.4	3.0	2.2	—	—	—	2.6
5	—	—	—	—	6.4	6.2	—	5.4	5.4	4.8	1.5	—	—	3.6
20	—	—	—	—	11.1	11.0	—	11.0	10.8	10.8	10.3	—	—	10.1
mgrs. of E.P. p. cc.	—	—	—	—	1.0	1.0	1.0	0.4	0.2	0.1	0.04	0.02	0.2	—

Experiments 7 and 13 clearly prove that the presence of E.P. does not suffice to reactivate the washed zymin. This, however, may be the case (exp. 5, 6, 8, 9, 10 and 11) when along with E.P. other substances, which in the other stages of inactivation had shown to possess reactivating properties, occur in the fermenting system. In exp. 11 is shown that a small

amount of E.P., in this case a concentration of 0.004 %, is able to activate the zymin, provided hexosebiphosphate and methylene blue are also present in the medium. However, when the amount of E.P. added is twenty-five times as large as in exp. 11 then already a mixture of methylene blue and of VON EULER's principle suffices to produce a reactivating effect c.f. exp. 5. By comparing exp. 9 and 13 with the exp. 5 and 7 it is also clearly demonstrated that the reactivating action produced by hexosebiphosphate in exp. 9 may be substituted in exp. 5 by that of a larger amount of VON EULER's substance. This remarkable phenomenon may find its explanation in the following considerations.

Firstly we may refer to my former communication¹⁾ and to those of KLUYVER and STRUYK¹⁾ for the probability that the reactivating property of hexosebiphosphate is as a rule due to the esterified phosphoric groups present in it. Now it is important to emphasize in this connection that according to VON EULER's investigations²⁾ his principle also contains the phosphorus in esterified condition. Under these circumstances it seems safe to conclude that in the experiments in which hexosebiphosphate is omitted E.P. acts in two ways viz. firstly as a source of esterified phosphoric groups, secondly as a specific reactivator. It is this latter function which still manifests itself in the experiments in which E.P. is active already in small concentrations i.e. in those experiments in which hexosebiphosphate too was added.

When we draw our attention to the experiments 5 and 7 we find back again the characteristics of the first stage of inactivation since the simple addition of methylene blue suffices to give reactivation.

We may conclude from these experiments that the washing necessary for the attainment of this stage of inactivation only removes the hydrogen-acceptor but leaves hexosebiphosphate and E.P. in sufficient amounts in the washed zymin.

We also want to add here that in another set of experiments of the same nature as above, even an amount of 40 milligrams of VON EULER's agent per 5 cc. did not make the washed zymin ferment the glucose provided hexosebiphosphate or methylene blue were not added at the same time.

C.

The following series of experiments show that even a zymin which is only in its third stage of inactivation viz. that it only ferments glucose when hexosebiphosphate and methylene blue are added to the fermenting system cannot be activated by the single addition of VON EULER's principle.

6 grams of zymin were once washed with 50 cc. of water for 15 minutes. The zymin suspension used was made up to 24 cc. 1.5 cc. of this suspension

¹⁾ loc. cit.

²⁾ H. VON EULER and K. MYRBÄCK, *Naturwiss.* **17**, 291 (1929).

was added to the solutions which contained 0.25 gram of glucose along with the following substances.

One cc. of each of these mixtures was introduced into the fermentation apparatus.

The hexosebiphosphate solution contained 10 mgrs. of organic P. per cc. 1 cc. of the solution of E.P. contained 20 mgrs. of this substance.

Exp. 1. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1.0 cc. saturated solution of methylene blue.

Exp. 2. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosphate.

Exp. 3. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl.

Exp. 4. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 0.5 cc. Na-hexosebiphosph. + 1 cc. mbl. + 1 cc. E.P.

Exp. 5. 1.0 cc. 0.5 m. K_2HPO_4 + 1.0 cc. E.P.

Exp. 6. 2.5 cc. of the boiled washings (concentrated).

TABLE C.

Time in hours	Evolution of CO_2 in cc. at atmospheric pressure.					
	Number of experiment					
	1	2	3	4	5	6
1.5	—	—	—	0.3	—	0.4
3	—	—	0.7	1.7	—	2.0
4	—	—	1.1	2.2	—	2.5
7	—	—	2.2	4.5	—	4.0
20	—	—	8.6	10.6	—	9.1

When we compare this set of experiments with that belonging to Table B, then it will be obvious that some of VON EULER's principle must still occur in the washed zymin c.f. for instance exp. 3 of table C with exp. 3 and 8-12 of table B. As exp. 5 shows, E.P. cannot reactivate the zymin either in this stage of inactivation even when it is added in large amounts. With a view to several of VON EULER's experiments it is of some importance to emphasize the fact that the foregoing experiments show that it is not allowed to consider a washed zymin to be free from VON EULER's principle until experiments carried out prove that the zymin can no more be reactivated by a mixture of suitable amounts of hexosebiphosphate and of a hydrogen accepting substance cf. experiments 2 and 3.

DISCUSSION.

The results obtained in this communication and in the former, should be considered in connection with the results from other recent investigations about the "co-enzyme". As such we mention those of KLUYVER and STRUYK and those of VON EULER c.s.

The first mentioned authors were the first to state clearly that apo-zymase may be reactivated by several agents, the nature of which depends on the degree in which the zymase system has been washed. They rejected the generally accepted view, that there is only one single "co-enzyme" and they concluded that next to apo-zymase three different principles must occur in the fermenting medium. As these reactivating agents they mention: a hydrogenaccepting substance, hexosebiphosphate (esterified phosphoric groups) and an antiprotease.

Their experimental evidence was obtained in fermentations with maceration juice. It was of some importance to investigate whether this principle of gradual activation is valid in experiments with zymin as well. In my first communication this really proved to be the case. In these former experiments, according to the degree in which the zymin has been washed, various principles could act as reactivators, the sequence of which being the same as in the experiments of KLUYVER and STRUYK, viz.: a hydrogen accepting substance, hexosebiphosphate and an extract made with water from the washed zymin.

However, when the washing of the zymin was continued a stage of inactivation of the zymin was reached in which a reactivation of the apo-zymase by adding the three principles mentioned could no more be obtained, whereas the boiled washings still proved to possess a reactivating property. So one was bound to draw the conclusion of the presence of another reactivating principle in the boiled washings. In the present communication it is demonstrated that the fourth missing principle is identical with the agent called by VON EULER the "co-enzyme of alcoholic fermentation", a principle which was isolated by this investigator in a fairly pure state.

Of late years VON EULER has proclaimed this agent to be the only reactivator of the apo-zymase. That the results obtained by this author apparently justify this conclusion must be ascribed to the fact that VON EULER in his experiments always makes use of "Trockenhefe". Probably the use of the dried yeast prevented VON EULER from observing the interesting stages of inactivation which may be reached in experiments with a suitable zymin. The same reason may account for the fact that this investigator did not observe that the inactivation may not always be neutralized by merely adding his principle (c.q. "co-enzyme") even in large amounts to a fermenting medium.

The experiments with maceration juice (KLUYVER and STRUYK) as well as my own experiments with zymin, however, prove irrefutably that it is not allowed to generalise VON EULER's view and to identify each principle which reactivates an apo-zymase with VON EULER's agent. On the other hand it must be stated that at least in fermentations with zymin, the third reactivating principle of KLUYVER and STRUYK may be omitted, probably owing to the less proteolytic properties of zymin (baker yeast) in comparison with that of maceration juice (brewery yeast).

In fermentations with washed zymin, the occurrence in the medium of a

hydrogen-accepting substance along with hexosebiphosphate and of VON EULER's principle always suffices to substitute the boiled washings as reactivating principle.

It is of importance that my experiments show in a convincing way that VON EULER's principle, provided it is present in a somewhat larger amount, is able to substitute hexosebiphosphate, but that the reversal is not at all the case.

This behaviour of E.P. may find its explanation in the fact that on the one hand this principle also contains phosphoric groups in esterified condition and hence may replace hexosebiphosphate in its function, but on the other hand has a specific action of unknown character. In this connection attention may be drawn to the following.

VON EULER mentions that his "co-enzyme" is inactivated in correspondence with the degree to which the esterified phosphoric groups are set free but that under other conditions also a total inactivation can be obtained while still $2/3$ of the phosphorus is in an organic state. VON EULER suggests this last mentioned inactivation to be due to a desamination of the adenylic group in the nucleotide.

The two different types of inactivation of VON EULER's principle are in perfect agreement with the dual function of this substance as revealed by the experiments described in this communication.
